

**EFFECTOS DE LA COMPLEMENTACIÓN CON ACEITE DE SACHA
INCHI DE UNA COMIDA RICA EN GRASA SOBRE LA RESPUESTA
METABÓLICA E INFLAMATORIA POSTPRANDIAL Y SU
RELACIÓN CON EL ESTADO METABÓLICO.**

ALICIA NORMA ALAYÓN

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS**

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

**SANTIAGO DE CALI
2017**

**EFFECTOS DE LA COMPLEMENTACIÓN CON ACEITE DE SACHA
INCHI DE UNA COMIDA RICA EN GRASA SOBRE LA RESPUESTA
METABÓLICA E INFLAMATORIA POSTPRANDIAL Y SU
RELACIÓN CON EL ESTADO METABÓLICO.**

ALICIA NORMA ALAYON

Trabajo de tesis para optar al Grado de Doctor en Ciencias Biomédicas

Directora:
ISABELLA ECHEVERRI JIMÉNEZ M.D. PHD.

**UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BÁSICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS**

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

**SANTIAGO DE CALI
2017**

La Directora:

ISABELLA ECHEVERRI JIMÉNEZ M.D., PhD en Ciencias Biomédicas y Docente Investigadora de la Universidad ICESI,

CERTIFICO: que la Tesis Doctoral titulada **“Efectos de la complementación con aceite de sachá inchi de una comida rica en grasa sobre la respuesta metabólica e inflamatoria postprandial y su relación con el estado metabólico”** realizada por Alicia Norma Alayón para optar al grado de Doctor en Ciencias Biomédicas, ha sido llevada a cabo bajo mi dirección en los laboratorios de Medicina Genómica de la Universidad ICESI en la ciudad de Cali y del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de San Buenaventura en la ciudad de Cartagena.

Santiago de Cali,...../...../ 20...

Isabella Echeverri Jiménez M.D. PhD.

Nota de aceptación

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Fecha de la Sustentación (DD/MM/AAAA)

A mi padre, quien me enseñó que rendirse no es una opción.

AGRADECIMIENTOS

Detrás del logro de presentar una tesis hay tantas y tantas personas a quien agradecer...Espero, sin embargo, que aquellos olvidos que, involuntariamente, dejen sin reconocimiento a alguna de ellas, sean tomados con benevolencia y comprensión.

Agradezco a Dios y a la vida, que me dieron la oportunidad de hacer realidad este sueño de ser doctor, acariciado durante muchos años.

A mi familia, a quien agradezco y a la vez pido disculpas por las interminables horas frente al computador.

A mis amigos, los de siempre y los que aparecieron como ángeles durante el tiempo de mi formación.

A la Universidad de San Buenaventura, a la Universidad del Valle y a la Universidad ICESI que me apoyaron en este arduo camino.

A mis docentes, cada uno aportando en mi formación con su conocimiento de las Ciencias Biomédicas... y de la vida.

Al Dr. Guillermo Ortega Ávila, por su paciencia para enseñar y su incansable ritmo de trabajo.

Y muy especialmente, a las familias Echeverri Jiménez y Leca Echeverri, y a la adorable señora Diosita, por su ternura, por su comprensión y su apoyo invaluable. En los peores momentos, se reunieron para ser mi soporte espiritual y hacerme sentir que todo iba a estar bien. Gracias.

A mi Directora, la increíble y dulce Dra. Isabella, por su firme exigencia siempre amable, su disposición permanente y su amplia sabiduría. Gracias, mi querida Doctora.

A todos, muchas gracias.

TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO	7
LISTA DE TABLAS	10
LISTA DE FIGURAS	11
ABREVIATURAS	14
GLOSARIO	15
RESUMEN	16
INTRODUCCION	18
1. MARCO REFERENCIAL	21
1.1 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DE LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR.	21
1.2 MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS.....	23
1.2.1 La importancia del tejido adiposo	23
1.2.2 El estado inflamatorio postprandial	26
1.2.3 La resistencia a la insulina	33
1.2.4 La participación de las células mononucleares	36
1.3 INTERVENCIONES NUTRICIONALES.....	41
1.3.1 Importancia del contenido de la ingesta en el impacto postprandial	47
1.3.2 Aceite de Sacha inchi. Sacha Inchi (<i>Plukenetia volubilis</i> Linneo):a wasted ancestral experience? Clinical evidence related to its consumption. Rev Chil Nutr Vol. 43, N°2, 2016 DOI 10.4067/S0717-75182016000200009	52
2. OBJETIVOS.....	63
2.1 Objetivo General.....	63
2.2 Objetivos Específicos	63
3. MÉTODOS.....	64
3.1 Tipo de estudio	64
3.2 Población y muestra	64
3.3 Etapas del estudio	66
3.3.1 Captación	66

3.3.2 Intervenciones	66
3.3.3 Toma y procesamiento de muestras	68
3.3.4 Marcadores en suero del metabolismo de glúcidos	71
3.3.5 Marcadores en suero del metabolismo lipídico	74
3.3.6 Marcadores de inflamación	75
3.3.7 Análisis de expresión genética	80
3.4 Análisis estadístico de datos	85
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	86
4.1 CAPITULO 1. Estado basal.	86
4.2 CAPÍTULO 2. Efectos postprandiales de la ingesta de una comida rica en grasas (HFM).....	87
4.2.1 Efectos de HFM sobre el metabolismo postprandial de glúcidos. (N=42)	87
4.2.2 Efectos de HFM sobre el metabolismo postprandial de lípidos. (N=42) ..	88
4.2.3 Efectos de HFM sobre la respuesta inflamatoria postprandial. (N=42) ..	89
4.2.3.1 Relación entre efectos postprandiales de HFM y obesidad abdominal.	92
□ Impacto metabólico e inflamatorio postprandial de una comida rica en grasas y su relación con la presencia de obesidad abdominal. Biomédica.2018;38(Supl.1).	92
4.3 CAPÍTULO 3. Efectos postprandiales de la complementación con aceite de Sacha inchi (HFM+S)	106
4.3.1 Efectos de HFM+S sobre el metabolismo postprandial de glúcidos. (N=42)	106
4.3.1.1 Relación entre los efectos de HFM+S sobre el metabolismo postprandial de glúcidos y la presencia de obesidad abdominal.....	108
4.3.1.2 Caracterización de los sujetos de acuerdo con la respuesta glucémica a HFM+S.	112
□ Carbohydrate metabolism and gene expression of sirtuin 1 in healthy subjects after Sacha inchi oil supplementation: A randomized trial. (publicado Food & Function, 2018. DOI:10.1039/C7FO01956D).....	113

4.3.2 Efectos de HFM+S sobre el metabolismo postprandial de lípidos. (N=42)	130
4.3.2.1 Relación entre los efectos de HFM+S sobre el metabolismo postprandial de lípidos y la presencia de obesidad abdominal.	134
4.3.3 Efectos de HFM+S sobre la respuesta inflamatoria postprandial. (N=42)	135
4.3.3.1 Relación entre los efectos de HFM+S sobre la respuesta inflamatoria postprandial y la presencia de obesidad abdominal.	138
4.3.3.2 Relación entre los efectos de HFM+S sobre lípidos e inflamación postprandiales y el estado de salud metabólica.	143
□ The effects of adding of Sacha inchi oil on postprandial inflammation and lipid profile are related with metabolic status. Randomized Clinical Trial (sometido a evaluación en revista científica)	143
5. DISCUSIÓN GENERAL DE RESULTADOS	157
6. CONCLUSIONES	161
BIBLIOGRAFIA	162
ANEXOS	180
Anexo 1. Entrevista preliminar	180
Anexo 2. Entrevista definitiva y consentimiento informado	181
Anexo 3. Aval del Comité de Bioética de la Universidad de San Buenaventura, Cartagena. Colombia.	186
Anexo 4. Aval del Comité de Ética de la Universidad ICESI, Cali. Colombia.	187
Anexo 5: Registro en Clinical Trials	190
Anexo 6. Certificado del curso “Protección de los participantes humanos de la investigación”	191
Anexo 7. Control de la amplificación	192
Anexo 8. Estandarización de la PCR cuantitativa (qPCR)	193

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Protocolo para la determinación de glucosa.....	71
Tabla 2 Protocolo para la determinación de insulina.	72
Tabla 3 Protocolo para la determinación de colesterol total.	74
Tabla 4 Protocolo para la determinación de la fracción HDL-colesterol.	75
Tabla 5 Protocolo para la determinación de IL-6.	76
Tabla 6 Protocolo para la determinación de PCRus en suero.	78
Tabla 7 Protocolo para la determinación de LPS en suero.	79
Tabla 8 Primers utilizados para las determinaciones moleculares de IL-6 y SIRT-1.81	
Tabla 9 Preparación del master mix para retrotranscripción (a).	81
Tabla 10 Protocolo para retrotranscripción.....	81
Tabla 11 Preparación de mix para amplificación.	82
Tabla 12 Condiciones de amplificación.	83
Tabla 13 Protocolo para PCR en tiempo real.	83
Tabla 14 Protocolo de amplificación.....	84
Tabla 15 Protocolo de ciclo de disociación (melting).....	84
Tabla 16 Valores basales previos a ambas intervenciones (N=42).....	86
Tabla 17 Estimadores de función pancreática postprandial, con HFM (N=42).....	88
Tabla 18 Indicadores de insulinoresistencia en ayunas y post consumo de HFM, de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal (O/n=21 y NO/n=21/)	91
Tabla 19 Niveles en ayunas y respuestas postprandiales de glucosa e insulina tras la ingesta de una comida rica en grasas, en los grupos sin obesidad abdominal (NO/n=21) y con obesidad abdominal (O/n=21).	97
Tabla 20 Niveles en ayunas y respuestas postprandiales lipídicas tras la ingesta de una comida rica en grasas, en los grupos sin obesidad abdominal (NO/n=21) y con obesidad abdominal (O/n=21).....	98
Tabla 21 Concentraciones en ayunas y postprandiales de los marcadores inflamatorios en los grupos sin obesidad abdominal (NO/n=21) y con ella (O/n=21).99	
Tabla 22 Índice de sensibilidad a insulina post HFM+S respecto a HFM, de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal.	110
Tabla 23 Baseline and postprandial biomarkers data of all subjects with and without Sacha inchi oil (n=42).	118
Tabla 24 Baseline and postprandial lipid concentrations after stratification.....	121
Tabla 25 Anthropometric features, glucose, insulin and HOMA-IR at baseline discriminating by metabolically healthy (MH) and metabolically unhealthy (MU). 149	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Modificaciones del tejido adiposo relacionadas con la presencia de obesidad.	26
Figura 2. Cascada de activación del factor nuclear kappa beta.	29
Figura 3. Estructura molecular de un lipopolisacárido.	30
Figura 4. Cascada de activación de TLR4 mediada por LPS.	31
Figura 5. Cambios originados por la obesidad y su relación con insulinoresistencia.	34
Figura 6. Inicio del proceso de formación de la estría grasa.	38
Figura 7. Etapas de comienzo, desarrollo y resolución del estado inflamatorio.	39
Figura 8. Relaciones implicadas en la vía inflamatoria provocada por la ingestión de una comida rica en grasas.	42
Figura 9. Estructura molecular de los ácidos grasos.	43
Figura 10. Metabolitos relacionados con las fases de desarrollo y resolución de la inflamación.	44
Figura 11. Contenido porcentual de ácidos grasos en grasas de distintos orígenes.	51
Figura 12. Diagrama mostrando el flujo de participantes a través de cada fase del ensayo.	67
Figura 13. Esquema y foto del resultado final de la separación de PBMC provista por el fabricante.	70
Figura 14. Foto resultado final de la separación de PBMC.	70
Figura 15. Curva de calibración para IL-6.	77
Figura 16. Curva de calibración para PCRus.	78
Figura 17. Curva de calibración para LPS.	80
Figura 18. Concentraciones de glucosa e insulina en suero, durante la intervención con HFM. (n=42).	87
Figura 19. Concentraciones de colesterol total, HDL y no HDL en suero durante la intervención con HFM (n=42).	89
Figura 20. Concentraciones de LPS, IL-6 y usPCR en suero, durante la intervención con HFM (n=42).	90
Figura 21. Variación de la expresión de IL-6 en PBMC, a las 4 horas post HFM respecto al momento de ayunos (en log ₂ DDCT) (n=42).	91
Figura 22. Concentraciones de glucosa en suero con ambos tratamientos (n=42).	107

Figura 23. Concentraciones de insulina en suero con ambos tratamientos (n=42).	107
Figura 24. Índices de insulinoresistencia en ayunas, previo a ambos tratamientos, discriminados de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal (NO/n=21; O/n=21).	108
Figura 25. Efecto de ambos tratamientos sobre el incremento del área bajo la curva para glucosa e insulina, discriminados de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal.	109
Figura 26. Efectos de ambos tratamientos sobre los estimadores de función pancreática postprandial, de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal.	110
Figura 27. Distribución de la diferencia entre los incrementos de las áreas bajo las curvas de glucosa con ambos tratamientos, en el grupo completo (n=42).	111
Figura 28. Distribución de la diferencia entre los incrementos de las áreas bajo las curvas de glucosa con ambos tratamientos, en el grupo sin obesidad abdominal (n=21).	111
Figura 29. Distribución de la diferencia entre los incrementos de las áreas bajo las curvas de glucosa con ambos tratamientos, en el grupo con obesidad abdominal (n=21).	112
Figura 30. CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) diagram showing the flow of participants through each stage of the trial.	116
Figura 31. Serum glucose and insulin concentrations during the study.	119
Figura 32. Effects on AHG and EHG groups of HFM and HFM + S intake expressed as AUC and iAUC of glucose and insulin.	120
Figura 33. Effects of both treatments on lipid profile, in the AHG and EHG groups.	122
Figura 34. Correlation between Sirt-1 expression and ISI after HFM+S, in the AHG group ($r = 0.636$, $p = 0.035$).	123
Figura 35. Concentraciones de colesterol total en suero con ambos tratamientos (n=42).	130
Figura 36. Concentraciones de HDL-colesterol en suero con ambos tratamientos (n=42).	130
Figura 37. Concentraciones de no HDL-colesterol con ambos tratamientos (n=42).	131
Figura 38. Concentraciones de triacilglicéridos en suero con ambos tratamientos (n=42).	131
Figura 39. Efecto de ambos tratamientos sobre el incremento del área bajo la curva para colesterol total, HDL y no HDL (n=42).	132

Figura 40. Efecto de ambos tratamientos sobre el incremento del área bajo la curva para TAG (n=42).	133
Figura 41. Efectos de ambos tratamientos sobre el incremento del área bajo la curva para colesterol total, HDL y no-HDL, discriminados de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal (n=21).	134
Figura 42. Efectos de ambos tratamientos sobre el incremento del área bajo la curva para triacilglicéridos, discriminados de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal.	135
Figura 43. Concentraciones de LPS en suero con ambos tratamientos (n=42). .	136
Figura 44. Concentraciones de PCRus en suero con ambos tratamientos (n=42).	136
Figura 45. Concentraciones de IL-6 en suero con ambos tratamientos (n=42). .	137
Figura 46. Efectos de ambos tratamientos sobre el incremento del área bajo la curva para LPS y el aumento de IL-6 y PCR (n=42).	138
Figura 47. Efectos de ambos tratamientos sobre el incremento del área bajo la curva para LPS y la diferencia entre tiempo 4 y ayunas de IL-6 y PCR, discriminados de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal (n=21).	139
Figura 48. Distribución porcentual de número de no obesos y obesos, de acuerdo con el estado de salud metabólica.	140
Figura 49. Efectos de ambos tratamientos sobre LPS, IL-6 y PCR, de acuerdo con el estado de salud metabólica (MH/n=20; MU/n=22).	141
Figura 50. Efecto de ambos tratamientos sobre la expresión de IL-6 (log ₂) en ambos grupos (MH y MU).	142
Figura 51. Flow diagram of enrollment, random assignment of the intervention, withdrawals and follow-up of the study subjects.	147
Figura 52. Effect of HFM and HFM+S intake on fasting and postprandial concentrations of the plasma total cholesterol (a), HDL-cholesterol (b), triacylglycerides (c), and iAUC of lipid profiles (d), in MH group (n=20) and MU group (n=22).	150
Figura 53. The effect of both treatments on fasting and postprandial inflammation variables into metabolically healthy (MH / n=20) and unhealthy (MU / n=22) groups.	151

ABREVIATURAS

AHG: attenuated hyperglycemic group, grupo con hiperglucemia atenuada.
ALA: alpha linolenic acid, ácido alfa linolénico (C18; omega-3; ω -3)
AUC: area under the curve, área bajo la curva
BMI: body mass index, índice de masa corporal
TC: total cholesterol., colesterol total
DHA: docosahexaenoic acid, ácido docosahexaenoico (C22; omega-3; ω -3)
EHG: enhanced hyperglycemic group, grupo con hiperglucemia potenciada
EPA: eicosapentaenoic acid, ácido eicosapentaenoico (C20; omega-3; ω -3)
FC: folder change, veces de cambio
G: glucose, glucosa
G_n: mean normal for fasting glucose level, nivel medio normal de glucose en ayunas
HDL-C: high density cholesterol fraction, colesterol de lipoproteínas de alta densidad
HFM: high fat meal, comida rica en grasa
HFM+S: high fat meal with Sacha inchi oil, comida rica en grasa con aceite de Sacha inchi.
HOMA-IR: homeostasis assessment model for insulin resistance, índice de insulinoresistencia
iAUC: incremental area under the curve , área incremental bajo la curva
IGI: insulinogenic index, índice insulínogénico
IL-6: Interleukin 6, interleucina 6
Ins: insulin, insulina
Ins_n: mean normal for fasting insulin level, nivel promedio normal de insulina en ayunas
IQR: interquartile range, rango intercuartílico
IR: insulin resistance, resistencia a insulina
ISI₀: index of basal insulin sensitivity, índice de sensibilidad basal a insulina
ISI_{pp}: index of postprandial insulin sensitivity, índice de sensibilidad postprandial a insulina
LA: linoleic acid, ácido linoleico (C18; omega-6; ω -6)
LRT: lipoproteínas ricas en triacilglicéridos
LPS: lipopolysaccharides, lipopolisacáridos
MH: metabolically healthy, metabólicamente saludables
MU: metabolically unhealthy, metabólicamente no saludables
MUFA: monounsaturated fatty acids, ácidos grasos monoinsaturados
PBMC: peripheral blood mononuclear cell, células mononucleares de sangre periférica
PUFA: polyunsaturated fatty acids, ácidos grasos poliinsaturados
r: Spearman's rank correlation coefficient, coeficiente de correlación de Spearman
SD: standard deviation, desvío estandar
SFA: saturated fatty acids, ácidos grasos saturados
SIRT-1: sirtuin1, sirtuina 1
TAG: triacylglycerides, triacilglicéridos
WC: waist circumference, circunferencia de cintura

GLOSARIO

AHG Attenuated hyperglycemic group, grupo con hiperglucemia atenuada. Se clasificaron bajo esta denominación al subgrupo de sujetos que respondieron a la adición del aceite de Sacha inchi mostrando una disminución de los niveles de glucosa postprandiales, al ser comparados con la ingesta de la carga grasa.

EHG Enhanced hyperglycemic group, grupo con hiperglucemia potenciada. Se clasificaron bajo esta denominación al subgrupo de sujetos que respondieron a la adición del aceite de Sacha inchi mostrando un aumento de los niveles de glucosa postprandiales, al ser comparados con la ingesta de la carga grasa.

HFM High fat meal, comida rica en grasa. Intervención consistente en 100 g de pan untado con 70 g de mantequilla comercial, acompañado de 150 mL de café adicionado con 10 g de azúcar.

HFM+S High fat meal with Sacha inchi oil, comida rica en grasa con adición de aceite de Sacha inchi. Intervención consistente en 100 g de pan untado con 70 g de mantequilla comercial y 15 mL de aceite de Sacha inchi, acompañado de 150 mL de café adicionado con 10 g de azúcar.

MH Metabolically healthy, metabólicamente saludables. Se clasificaron bajo esta denominación aquellos pacientes que presentaran en sus muestras de ayuno 4 o más de las siguientes características: BMI < 28.0 kg /m², HDL-C > 1.00 mmol/L (39.0 mg/dL), LDL-C < 2.60 mmol/L (100 mg/dL), TC < 5.20 mmol/L (200 mg/dL), HOMA-IR < 1.95 or TAG < 1.71 mmol/L (150 mg/dL). Estos valores se tomaron a partir de la clasificación propuesta por Badoud, 2015 [27].

MU Metabolically unhealthy, metabólicamente no saludables. Se clasificaron bajo esta denominación aquellos pacientes que no cumplieran los requisitos para ser catalogados como metabólicamente no saludable.

RESUMEN

Introducción

La etapa postprandial se caracteriza por cambios en glúcidos y lípidos, con aumento en circulación de lipoproteínas ricas en triacilglicéridos y lipopolisacáridos, lo cual activa cascadas de liberación de citocinas y el desarrollo de un estado inflamatorio de bajo grado relacionado con enfermedad cardiovascular. La magnitud de estos eventos depende del estado metabólico y es mayor cuando la ingesta contiene ácidos grasos saturados.

El aceite de sachá inchi es una fuente vegetal de ácidos grasos insaturados poco explorada y su consumo podría modificar el impacto postprandial de una ingesta grasa. Por lo anterior, se realizó un ensayo clínico cruzado aleatorizado doble enmascarado cuyo objetivo fue evaluar el efecto de la adición de aceite de sachá inchi sobre los cambios postprandiales en el metabolismo de glúcidos, lípidos e inflamación, producidos por la ingesta de un desayuno rico en grasas, y su relación con el estado metabólico.

Metodología

Ensayo clínico cruzado aleatorizado, en el cual 42 hombres adultos fueron citados en dos momentos para ingerir un desayuno rico en grasas solo [HFM: 874 cal, 59% de grasas (SFA 32%, MUFA 23%, PUFA 4%)], o complementado con 15 mL de aceite de Sachá inchi [HFM+S: 998 cal, 65 % de grasas (SFA 30%, MUFA 20%, PUFA 15%)].

Se cuantificaron glucosa, insulina, perfil lipídico y lipopolisacáridos en sangre en ayunas y a la hora y 4 horas post ingesta. En ayunas y a las 4 horas se midieron interleucina-6, y proteína C reactiva y se aislaron PBMC para evaluar expresión de SIRT-1 e IL-6 por qCPR.

Resultados y discusión

La complementación con aceite de Sachá inchi mejoró la sensibilidad a insulina en 16 (38,1%) de los participantes correlacionando positivamente este índice con la expresión de SIRT-1 a las 4 hs ($r=0.636$; $p=0.035$). Este grupo había presentado una tendencia a valores menos saludables en ayunas y mayor respuesta glucémica a la carga grasa.

Respecto a lípidos, se observó atenuación del aumento de colesterol total [$iAUC_{HFM}$: 13.75 mg/dL/4h (IQR:-0.39/33.26); $iAUC_{HFM+S}$: 1.35 mg/dL/4h (IQR: -17.48/17.79) $p=0.017$], especialmente en los individuos metabólicamente sanos.

El perfil inflamatorio no se modificó tras la adición del aceite en el grupo completo, sin embargo en presencia de alteraciones metabólicas, se atenuó el aumento de LPS [LPS_{HFM} : 1.15EU/mL (IQR: 0.81/1.66); LPS_{HFM+S} : 1.04EU/mL (IQR: 0.59/1.31) $p=0.031$], y se perdió la correlación de este parámetro con TAG 4 horas post HFM ($r= 0.568$; $p=0.006$). No hubo cambios en los niveles circulantes de IL-6, pero su expresión en PBMC disminuyó [$FC_{HFM}= -1.19$ (RIC-1.72/1.93); $FC_{HFM+S}= -1.83$ (RIC-4,82/-0,01), $p=0,017$].

Conclusiones

La adición del aceite modifica parcialmente el impacto postprandial producido por la ingesta de una comida rica en grasas, sin embargo los efectos difieren de acuerdo con el estado metabólico del individuo.

Los resultados obtenidos aportan evidencias del papel que podría jugar la complementación con este aceite dentro de las estrategias para prevenir o tratar desórdenes relacionados con enfermedad cardiovascular, sin embargo, la optimización de su uso requiere investigaciones adicionales que incluyan su consumo por periodos más prolongados y un mayor número de biomarcadores.

Palabras clave: *Plukenetia volubilis* L; dieta alta en grasas; ácidos grasos poliinsaturados; inflamación; lípidos, lipopolisacáridos; obesidad; periodo posprandial; resistencia a la insulina; SIRT-1.

INTRODUCCION

Los cambios en estilos de vida, con aumento de la ingesta de alimentos hipercalóricos y disminución de la actividad física, han resultado en perfiles epidemiológicos en los que predominan las enfermedades crónicas relacionadas en su mayoría con sobrepeso y obesidad, entre ellas la enfermedad cardiovascular.

A pesar de los múltiples esfuerzos para su control, este desorden ocupa el primer lugar como causa de muerte y se estima que fue responsable de 17.7 millones de muertes en 2015, la mayor parte de ellas afectando ciudades de bajos y medios ingresos [1].

El desarrollo de enfermedad cardiovascular se asocia con la presencia de una serie de desórdenes metabólicos conocidos como síndrome metabólico, que incluyen hipertensión arterial, dislipidemia, alteraciones del metabolismo de la glucosa y obesidad abdominal.

En la actualidad, se ha comprobado que se acompaña de un estado inflamatorio de bajo grado en el que juegan un papel importante la activación de células circulantes o infiltradas en tejidos, entre ellas los monocitos, así como la presencia de moléculas que disparan complejas cascadas de producción de citocinas y quimiocinas, todo lo anterior asociado con aumento del riesgo cardiovascular [2].

La etapa postprandial, es decir el tiempo que transcurre luego de la ingesta de un alimento, se caracteriza por la presencia de lipoproteínas transportadoras de triacilglicéridos, proporcional al contenido de grasa del alimento. Durante este periodo se produce también un aumento en los niveles de lipopolisacáridos (LPS) circulantes, en su mayor parte provenientes del intestino, y de marcadores de inflamación, como la proteína C reactiva y ciertas citocinas circulantes, entre ellas la IL-6, así como de los niveles de glucosa e insulina, cuya magnitud dependerá, de manera directa, de la presencia de insulinoresistencia. Debido a este conjunto de características, la etapa postprandial puede aportar al riesgo de desarrollo de enfermedad vascular [3].

Entre los mediadores de respuesta a la ingesta se halla un representante de una familia de desacetilasas de histonas denominada sirtuina 1 (SIRT-1). Esta enzima ha mostrado efectos directos e indirectos sobre los procesos de inflamación, envejecimiento, cáncer, enfermedad cardiovascular, resistencia a insulina y desarrollo de diabetes tipo 2 [4] y su expresión en células sanguíneas circulantes se ha visto relacionada con la ingesta de glucosa (G) y ácidos grasos saturados (SFA) [5-7].

Lo expuesto acerca de la etapa postprandial depende de las condiciones metabólicas del individuo y el tipo de grasa consumida [8-10]. Estudios con diferentes tipos de ácidos grasos han mostrado que es recomendable ingerir dietas con bajo contenido de ácidos grasos saturados, relacionados con respuestas postprandiales más aterogénicas, y muestran como una buena opción su reemplazo por ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados, los cuales han mostrado promover niveles menores de inflamación, insulinoresistencia y dislipidemia [11].

En Colombia, especialmente en las zonas del Caquetá y Putumayo [12] está siendo cultivada una oleaginosa silvestre de la Familia Euforbiacea, denominada Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*), de cuyas semillas se puede extraer un aceite comestible con alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, fenoles y antioxidantes [13]. La ventaja comparativa de este aceite como producto agroindustrial resulta de su riqueza en compuestos que han mostrado ser protectores de riesgo cardiovascular, así como en su mayor índice de iodo y menor índice de acidez y peróxido, lo que mejora su estabilidad.

A la fecha es escasa la evidencia sobre los efectos de su consumo. Se conoce que mejora los perfiles lipídicos y su ingesta es segura y organolépticamente agradable [14,15], sin embargo no existe información acerca de sus efectos sobre los marcadores de inflamación y resistencia a insulina, en condiciones similares a su uso potencial.

Su inclusión en las dietas probablemente tome la forma de complemento alimenticio, en ingestas combinadas con otros tipos de aceites o grasas, por lo que es de gran interés el estudio de sus efectos bajo esas condiciones.

Teniendo en cuenta que la ingesta de la población de Colombia en general, y de Cartagena en particular, tiene elevado contenido en grasas, y tomando en consideración la resistencia a las modificaciones complejas de la dieta, el presente estudio evaluó si el agregado de aceite de Sacha inchi lograba modificar los cambios producidos tras la ingesta de una comida rica en grasas, sobre biomarcadores del metabolismo de glúcidos, lípidos e inflamación, y qué relación guardaban estos cambios con la presencia de alteraciones metabólicas.

Los resultados de este estudio aportan evidencias sobre el uso de este aceite como complemento y buscan contribuir de manera simultánea con dos de los pilares fundamentales del Plan de Desarrollo 2014-2018: la implementación de estilos de vida saludables y la transformación del campo [16], dado que el cultivo de Sacha inchi está siendo implementado como una alternativa agroindustrial que

busca contribuir con los planes para la sustitución de cultivos ilícitos y el mejoramiento de la calidad de vida de las comunidades rurales.

La presentación del Análisis de resultados está organizada en Capítulos, acordes con los objetivos específicos del estudio.

Algunos apartes de los capítulos cierran con un artículo publicado o en vías de publicación.

Parte de la revisión temática sobre el aceite de Sacha inchi se encuentra publicada en la Revista chilena de nutrición y se incluye como parte del contenido del documento, en el ítem 1.3.2.

El Capítulo 1 aborda las características basales de los participantes del estudio.

El Capítulo 2 desarrolla los efectos sobre el metabolismo de lípidos glúcidos e impacto inflamatorio derivados del consumo del desayuno rico en grasas (HFM), en el grupo completo (n=42) o diferenciados según la presencia de obesidad abdominal (NO/n=21; O/n=21).

Los resultados se encuentran publicados en la Revista Biomédica.

El Capítulo 3, muestra los efectos del agregado del aceite de Sacha inchi respecto a los cambios postprandiales derivados del consumo del alimento rico en grasas, analizando en primera instancia el grupo completo y estratificado según obesidad abdominal. Luego de esta primera aproximación, el análisis de los resultados dirigió la recategorización de los grupos.

Los efectos sobre glúcidos se analizaron con base en las respuestas individuales de los participantes al agregado del aceite, respecto al consumo de HFM, lo cual dio origen a la estratificación del grupo. Los participantes que disminuyeron su respuesta glucémica se denominaron “Grupo con hiperglucemia atenuada”, AHG) y los restantes se agruparon bajo la denominación “Grupo con hiperglucemia aumentada”, EHG). Los resultados de este análisis están en fase de sometimiento a evaluación para publicación en revista científica tal como se muestra en este capítulo.

Los efectos sobre lípidos e inflamación fueron analizados estratificando los pacientes de acuerdo con su salud metabólica, en metabólicamente saludables (MH) y metabólicamente no saludables (MU). El artículo derivado de estos resultados se encuentra en fase de sometimiento a evaluación para publicación en revista científica y se incluye en este mismo capítulo.

1. MARCO REFERENCIAL

1.1 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DE LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR.

Bajo la denominación de enfermedad cardiovascular se incluyen un conjunto de desórdenes que afectan el corazón y los vasos sanguíneos y en cuya base fisiopatológica se halla el proceso aterosclerótico. Esta enfermedad puede originar fallas en la irrigación sanguínea del corazón o del cerebro, produciendo ataques cardíacos o infarto cerebral isquémico. Con menor frecuencia también se observan infartos cerebrales hemorrágicos, usualmente relacionados con el aumento descontrolado de las cifras de presión arterial.

Si bien se conoce que la enfermedad cardiovascular es una de las principales causas de muerte en el mundo, las tendencias de sus diferentes subtipos, eventos no fatales y morbilidad relacionada están menos establecidas.

Para el año 2015, un tercio de todas las muertes fueron debidas a estas patologías y se ha podido establecer que, ajustando por edades, está ocurriendo en niveles alarmantes en ciudades con distintos niveles sociodemográficos pero, sin embargo, es más frecuente en niveles medios y bajos lo que se corresponde con la transición epidemiológica de estos países desde enfermedades infecciosas a enfermedades crónicas no transmisibles [17].

Entre otros factores, los cambios en estilos de vida, que privilegian el sedentarismo y la ingesta de comidas hipercalóricas, son considerados como responsables del aumento de factores de riesgo responsables de los incrementos en las cifras de morbilidad asociadas con enfermedad cardiovascular [18].

Estudios epidemiológicos de gran alcance como el INTERSTROKE y el INTERHEART en Latinoamérica, han permitido establecer que los principales factores de riesgo para la ocurrencia de eventos cardio-vasculares y cerebro-vasculares son la obesidad abdominal, seguida por la hipertensión arterial y el tabaquismo. La Encuesta Nacional de Demografía y Salud (ENDS) y la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional (ENSIN) realizadas en los años 2005 y 2010 muestran a Colombia en una etapa transicional de nutrición en la cual el sobrepeso aparece como un común denominador en todos los estratos socio económicos [19].

Por su parte, las estadísticas para Cartagena de Indias, permiten mostrar que las causas cardiovasculares fueron responsables del 28,6 % de las defunciones registradas durante el año 2015 (n=3467), siendo las más frecuentes el Infarto

Agudo de Miocardio (n=463), la enfermedad cerebro vascular (n=217) y la Insuficiencia Cardiaca Congestiva (n=149), seguidas por diabetes mellitus y diferentes formas de cáncer [20].

En lo que respecta a factores de riesgo, estudios realizados en el año 2009 mostraron en esta ciudad una prevalencia de sobrepeso y obesidad del 62% (41% de sobrepeso y 21% de obesidad), el 41,8% de la población presentó obesidad abdominal y de éstos el 39,3% mostraba hipertensión arterial, 31,9% algún tipo de dislipidemia y 11,2% diabetes mellitus tipo 2 [21].

La exploración de hábitos alimenticios en jóvenes estudiantes, mostró que el consumo de frutas es bajo, en contraste con la ingesta de comidas rápidas (embutidos, fritos, hamburguesas) y pequeños refrigerios que se toman entre comidas. El 44,4% de los entrevistados respondió que no realizaban actividad física [22].

Lo expresado se constituye en un escenario óptimo que permite anticipar no solo el sostenimiento sino el incremento futuro en las prevalencias de enfermedades cardiovasculares, a menos que se implementen estrategias efectivas y eficaces para hacer frente a este flagelo.

Parte de la respuesta gubernamental a este flagelo la constituye la nueva legislación que “define a la obesidad y las enfermedades crónicas no transmisibles asociadas a ésta como una prioridad de salud pública y se adoptan medidas para su control, atención y prevención” (ley 1355/2009). En el mismo sentido, se pronuncian los lineamientos gubernamentales nacionales, regionales y locales, y la Ley 1753 de 2015 Plan Nacional “Todos por un Nuevo País 2014-2018, al Plan Departamental “Bolívar Avanza 2015-2019 y el correspondiente Plan de Desarrollo 2016-2019, presentado recientemente por la Alcaldía Distrital de Cartagena de Indias D. T. y C.

La línea estratégica denominada CARTAGENA SANA CON SALUD PARA TODOS, y sus programas Vida Saludable, Condiciones No Transmisibles y Seguridad Alimentaria y Nutricional, entre otros, pretenden dar respuesta a los perfiles epidemiológicos de la región y, con meta en 2030, aportar a “reducir en un tercio la mortalidad prematura por enfermedades no transmisibles mediante la prevención, tratamiento y la promoción de la salud mental y el bienestar” [23].

El trabajo de tesis que se presenta, aporta y es coherente con los lineamientos gubernamentales y las necesidades locales, nacionales e internacionales, en lo que respecta al mejoramiento de la salud cardiovascular y al cierre de brechas sociales y económicas y la disminución de las disparidades entre las regiones del país, entendiendo sus principales necesidades y capacidades [24].

1.2 MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS

1.2.1 La importancia del tejido adiposo

Las causas bioquímicas que subyacen el desarrollo de enfermedad cardio y cerebro vascular se relacionan principalmente con aumento del volumen de tejido adiposo acompañado generalmente por la presencia de hipertensión, dislipidemia y resistencia a insulina, lo que recibe el nombre de síndrome metabólico y es ampliamente reconocido como factor de riesgo cardiovascular [25].

De acuerdo con el tercer panel del tratamiento del adulto (ATP III, por sus siglas en inglés: adult treatment panel III), el síndrome metabólico se define en el paciente que presente al menos tres de las siguientes características: circunferencia de cintura (mayor de 88 cm en mujeres y 102 cm en hombres, excepto en asiáticos donde los valores disminuyen a 80cm y 90 cm, respectivamente), glucosa en ayunas mayor de 100 mg/dL, triglicéridos mayor de 150 mg/dL, HDL-Col menor de 40 mg/dL en hombres o 50 mg/dL en mujeres premenopáusicas, y presión arterial sistólica/diastólica mayor de 130/85 mmHg. Adicionalmente, parece jugar un papel importante en este síndrome la presencia de inflamación de bajo grado [26].

Sumado a las consideraciones de niveles en ayunas, otros autores han mostrado que también las respuestas a retos alimenticios muestran diferencias apreciables, de acuerdo con la salud metabólica del individuo.

En tal sentido, Badoud en 2015 mostró que los sujetos metabólicamente poco saludables, respondieron con niveles mayores de glucosa e insulina al ser comparados con personas saludables, independientemente de la presencia de obesidad.

Este hallazgo implica que las respuestas postprandiales podrían resultar de una combinación de desórdenes metabólicos más compleja que la simple presencia de obesidad y, en consecuencia, podrían resultar de utilidad para el estudio del riesgo cardiovascular [27].

A pesar de la complejidad de eventos que subyacen al riesgo cardiovascular, no cabe duda de que la obesidad, especialmente de origen abdominal, está relacionada con el desarrollo de las comorbilidades del síndrome tales como inflamación e insulinoresistencia, producto del incremento del número y especialmente del tamaño de las células del tejido adiposo (adipocitos) [28].

Se conocen dos tipos de tejido adiposo, el pardo, denominado así por su color debido a la presencia de abundantes mitocondrias, y el blanco, distribuido como

grasa subcutánea y como panículo adiposo mesentérico y retroperitoneal (tejido adiposo visceral), más relacionado con desordenes metabólicos.

En efecto, se ha hallado que las personas con obesidad visceral y deterioro de la relación masa grasa/masa magra ($>1,5$) tienen mayor grado de dislipidemia aterogénica asociada a resistencia a la insulina y mayor riesgo cardiovascular [29].

El tejido adiposo está constituido en un 60 – 70 % por adipocitos, cuyo tamaño puede variar desde 20 a 200 micrómetros de diámetro. El resto, está representado por células endoteliales, sanguíneas, preadipocitos, fibroblastos y macrófagos, todos ellos de gran importancia en lo que respecta a la complejidad de su comportamiento [30], ya que son los mayores responsables de la secreción de adipocinas, como la leptina y la adiponectina, y citocinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa y la interleucina-6.

La leptina es una hormona peptídica con acciones a nivel hipotalámico, donde disminuye el apetito y aumenta el gasto energético, regulando de esa manera el peso corporal. Sumado a esto, ha mostrado estar implicada en otras acciones de la función endocrina, reproducción e inmunidad.

En obesos, sin embargo, contrario a lo que pudiera pensarse, su concentración suele estar incrementada debido a la presencia de resistencia, por lo que sus efectos resultan disminuidos debido a la inadecuada acción de la misma [31].

La adiponectina, por su parte ejerce sus efectos mediante la reducción de inflamación y el mejoramiento del metabolismo de lípidos y la sensibilidad a insulina.

Esta hormona está reducida en obesos, sin embargo el mecanismo de este efecto no está bien establecido y parece incluso estar relacionado con cambios en la concentración de leptina. De hecho, se ha sugerido que más allá de las concentraciones individuales, es importante considerar la relación leptina/adiponectina como mejor marcador de insulinoresistencia [32].

Interesantes resultados provenientes de un estudio multiétnico de aterosclerosis, con 6415 participantes, mostró que el volumen de grasa visceral pericárdica asoció positivamente con marcadores de inflamación como IL-6 y con mayor riesgo cardiovascular [33].

La relación entre el aumento de tejido adiposo y el desarrollo de hipertensión, estados inflamatorios, insulinoresistencia y diabetes, así como su extensa participación como órgano endocrino, muestran que la obesidad más allá de ser un aumento en los depósitos grasos, es un complejo proceso que toma lugar dentro del tejido y en el cual participan el aumento en número y tamaño de los

adipocitos, con incremento en la liberación de ácidos grasos, infiltración por macrófagos, y desarrollo de estrés oxidativo, inflamación e hipoxia [34].

A medida que el tejido adiposo aumenta, es mayor la expresión de mediadores de inflamación y factores quimiotácticos como la proteína quimioatrayente de macrófagos (MCP-1), y menor la producción de adiponectina.

Estos factores y la incapacidad del tejido adiposo para captar más ácidos grasos libres, contribuyen de manera importante a aumentar el pool circulante, favoreciendo el desarrollo de insulinoresistencia, diabetes tipo 2 y demás enfermedades asociadas con la obesidad, al tiempo que favorecen la llegada y posterior ingreso de células circulantes como monocitos y linfocitos, entre otros [35].

En el tejido adiposo en condiciones de obesidad, el adipocito incrementa su tamaño (se hipertrofia) y aumenta la producción de factores quimioatrayentes como MCP-1 y MIF, lo que favorece la infiltración de células inmunológicas circulantes.

El proceso resulta en una activación especialmente de células monocíticas, las cuales se diferencian a macrófagos del tipo M1 de carácter más inflamatorio (en lugar del fenotipo M2 menos inflamatorio), lo que se muestra en la figura 1, contribuyendo a generar en el tejido el aumento en la expresión de citocinas y leptina, la disminución de adiponectina y el incremento en la liberación de ácidos grasos libres a circulación, lo que contribuye al desarrollo de insulinoresistencia y se constituyen en la base de los procesos que explican el estado inflamatorio en estas condiciones [36,37].

Aún cuando el estado inflamatorio se relaciona con el estado crónico de aumento de masa grasa, la evidencia actual está mostrando que en momentos específicos relacionados con la ingesta alimentaria, surgen estados transitorios postprandiales inflamatorios.

Estos momentos postprandiales, caracterizados por el incremento de las concentraciones de lipoproteínas ricas en triacilglicéridos, se constituyen en un reto metabólico cuyo manejo estaría relacionado con el estado metabólico y podrían contribuir con la patología cardiovascular.

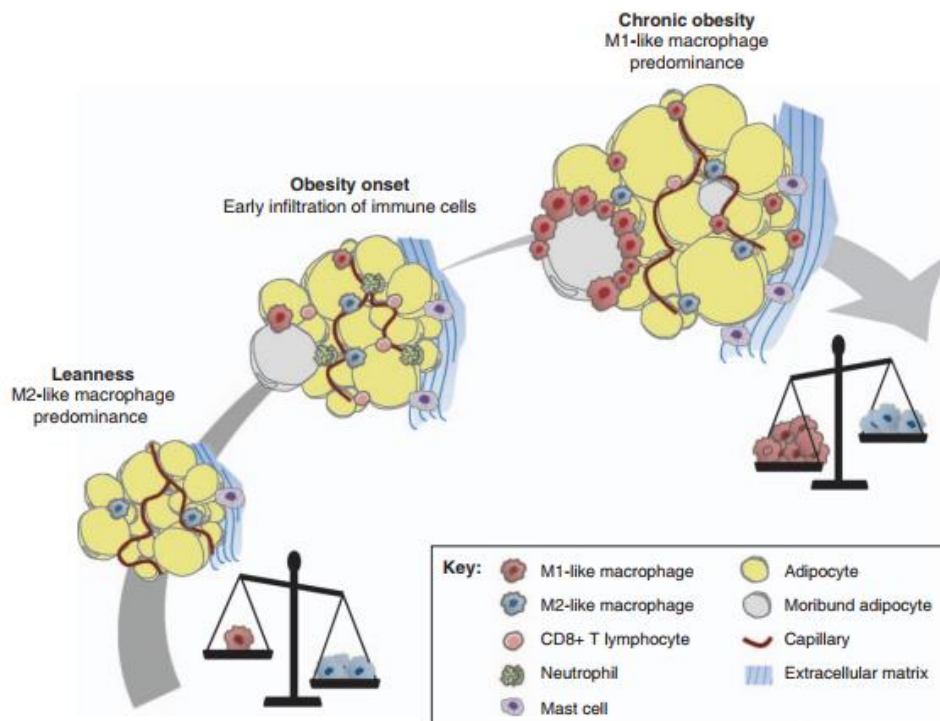


Figura 1. Modificaciones del tejido adiposo relacionadas con la presencia de obesidad.

Tomada de Dalmas et al, 2011 [37].

1.2.2 El estado inflamatorio postprandial

Sumado a los cambios en concentraciones de moléculas y macromoléculas derivadas de la ingesta de alimentos, el estado postprandial ha mostrado estar acompañado de un proceso de índole inflamatoria lo cual ha sido relacionado con riesgo cardiovascular.

Las características de este periodo se relacionan con la cantidad y, más específicamente, con el contenido del alimento ingerido, razón por la cual todo parece indicar que la alimentación, tanto en su aspecto cuantitativo como cualitativo, es una fuerte protagonista de este proceso.

De acuerdo con lo anterior, y tomando en consideración el hecho de que el ser humano pasa la mayor parte del tiempo en estado postprandial, esta tríada: alimento, etapa postprandial y riesgo cardiovascular se constituye en pilar obligado del estudio del desarrollo de enfermedad cardiovascular durante estos periodos inflamatorios que, en conjunto, se han dado en llamar lipotoxicidad dietaria [38].

Las características de la etapa inflamatoria postprandial están relacionadas con la composición de la dieta y, de manera notoria, con la cantidad y tipo de ácidos grasos contenidos en ella.

Se ha propuesto que la inflamación sería una consecuencia del incremento en los niveles de endotoxinas tipo LPS [39] provenientes en su mayor parte de intestino, ingreso que se vería favorecido por la presencia de desórdenes metabólicos subyacentes tales como la obesidad y el síndrome metabólico [40], que incidirían en el metabolismo lipídico y los niveles de ácidos grasos libres, en ayunas y postprandiales, de manera diferente dependiendo también del tipo de ácido graso consumido [8-10].

Un elemento clave para desencadenar el proceso inflamatorio se relaciona con un grupo de vías de señalización intracelular que llevan a la activación del factor nuclear kappa beta (NF-kb), las quinasas JunN terminal (JNK) y los inflamosomas. De éstos, el NF-kb ha sido reconocido como un actor clave en el desarrollo inflamatorio que acompaña las enfermedades asociadas con la presencia de obesidad y relacionado con el desarrollo de resistencia a insulina.

La evolución del ser humano implicó la necesidad de favorecer los depósitos de moléculas susceptibles de producir energía a efectos de poder enfrentar los tiempos de dificultades en su consecución.

Así, tejidos como el adiposo, el muscular y el hepático, entre otros, ganaron la posibilidad de albergar glucosa o lípidos para poder utilizarlos en épocas de privación. La insulina es una hormona clave en este proceso, favoreciendo la formación de glucógeno y la lipogénesis en épocas de abundancia.

Los efectos de la insulina se producen como consecuencia de la acción de esta hormona sobre su receptor, el cual se dimeriza y autofosforila. La porción citosólica fosforilada del receptor está relacionada con un tipo de proteínas denominadas sustrato del receptor de insulina (IRS). Se conocen dos tipos de IRS, denominados IRS-1 e IRS-2, siendo el IRS-1 el responsable más reconocido relacionado con el metabolismo de la glucosa [41].

La presencia de estados inflamatorios altera la correcta fosforilación de IRS-1 en residuos de tirosina, produciendo la fosforilación de residuos de serina y afectando la adecuada señalización [36] y favoreciendo el desarrollo de insulinoresistencia. A pesar de la forma negativa con la que siempre se ha mirado a la resistencia a insulina, es probable que la misma resulte de una adaptación a las ingestas excesivas de tal manera que evite el ingreso de nutrientes a la célula en tal exceso que disparen sus procesos de apoptosis.

Sumado a lo anterior, cuando la ingesta calórica supera el gasto de manera constante, los tejidos pueden resultar insuficientes para manejar estos estados de exceso y sobrevienen procesos de stress metabólico, inflamación e insulinoresistencia, a través de múltiples vías entre ellas las relacionadas con la activación del factor nuclear kappa beta (NF- κ B), con lo que se dispara la producción de citocinas las cuales orientan la activación de células inmunes y la fosforilación en serina del sustrato de receptor de insulina favoreciendo la resistencia a la hormona [42].

NF- κ B es un complejo proteico involucrado en múltiples procesos. Su expresión se controla por medio del bloqueo producido a través de su inhibidor (I κ B), y esta regulación obedece a un complejo entramado de diferentes señales que inclusive podrían diferir entre tejidos.

Por su parte el control del I κ B, se produce a través de la activación de un complejo de kinasas denominado IKK conformado por tres unidades catalíticas, IKK α , IKK β y una subunidad regulatoria conocida como IKK γ o NEMO. La fosforilación de I κ B por IKK, promueve su degradación, lo cual libera al NF κ B y permite su traslocación al núcleo y el ejercicio de sus funciones, tal como se muestra en la figura 2 [43].

Una vez activo, el NF- κ B regula una enorme cantidad de procesos, con complejos circuitos de feedbacks que comprometen una gran cantidad de elementos celulares regulatorios como citocinas, factores de crecimiento, moléculas de adhesión, señalización intracelular y factores de transcripción incluyendo miRNAs, por lo que se constituye en un elemento de gran relevancia al interior de las células en procesos crónicos como la aterosclerosis o el cáncer [44].

Entre los disparadores de la actividad del NF- κ B, se hallan una serie de ligandos que actúan sobre un tipo de receptor de membrana denominado receptor tipo Toll o TLR, especialmente de tipo 4.

Estos receptores se expresan en la membrana de las células del sistema inmune innato, entre ellas los monocitos/macrófagos y células dendríticas y se denominan receptores de reconocimiento de patrones moleculares, tanto asociados a agentes patógenos (PAMP) como a daño (DAMP), lo que les permite iniciar con rapidez una respuesta frente a procesos infecciosos o de daño tisular, activando la respuesta inflamatoria y/o la reparación del tejido [45].

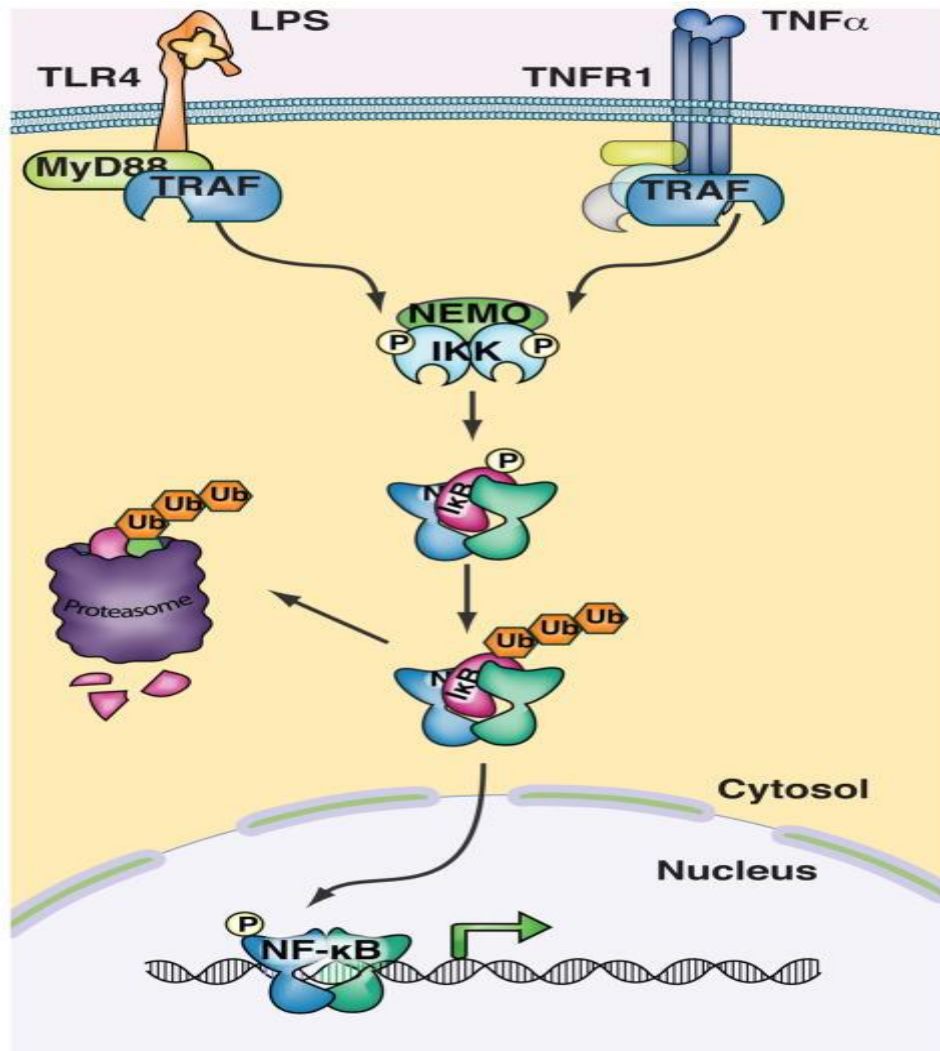


Figura 2. Cascada de activación del factor nuclear kappa beta.
Tomado de: Baker, 2011 [43].

Entre los PAMP reconocidos por este receptor se encuentran un grupo de macromoléculas provenientes de la pared celular de las bacterias Gram Negativas, denominadas en conjunto lipopolisacáridos (LPS). La entrada a circulación de LPS proveniente de las bacterias que conforman la microbiota bacteriana se ha relacionado con la ingesta de alimentos ricos en grasas y será desarrollado posteriormente.

La molécula de LPS está constituida por un glucolípidido, denominado lípido A y un core heteropolisacárido, que se unen a través del azúcar ácido 2-keto-3 deoxioctanato (Kdo).

El lípido A es el mayor responsable de la bioactividad de la endotoxina y está formado por un disacárido (glucosamina) unido a ácidos grasos generalmente caproico, laurico, mirístico, palmítico y esteárico, los cuales se insertan en la membrana externa de las bacterias. El core heteropolisacárido posee una parte externa formada por hexosas y una interna constituida por heptosas (Fig. 3). Los LPS viajan unidos a proteínas denominadas LBP, las cuales a su turno los transfieren a CD-14, el cual puede estar unido a la superficie de las células o libre en circulación. Finalmente, CD-14 presenta los LPS al complejo receptor formado por TLR4/MD2.

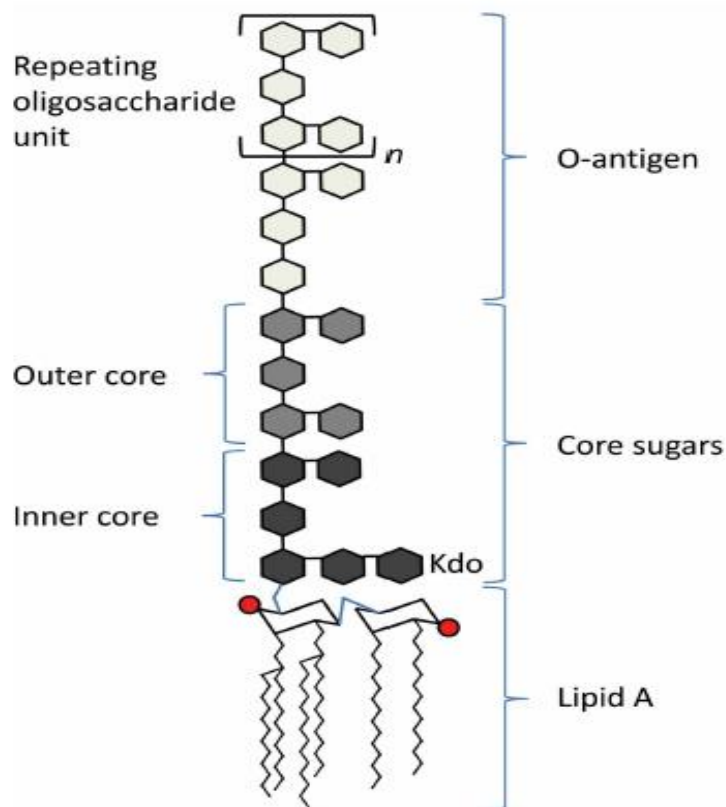


Figura 3. Estructura molecular de un lipopolisacárido.

Tomado de: Maeshima et al, 2013.

Los TLR4 son miembros de una familia de aproximadamente 10 miembros conocidos en humanos, los cuales tienen la capacidad de responder a diferentes PAMPs. Cuando el complejo TLR-4/MD2 une LPS se forma un heterodímero capaz de reclutar proteínas adaptadoras y desencadenar las señales activando la vía dependiente de MyD-88, a través del reclutamiento de este factor y el TIRAP, vía que culmina en la activación del factor de transcripción NF- κ B y la producción de citocinas proinflamatorias como TNF α e IL-6.

Aunque TLR-4 puede activar una segunda vía mediante la unión de dos adaptadores diferentes, denominados TRAM y TRIF, lo que generaría la transcripción del factor IRF3 y la producción de interferones de tipo I, esta vía no siempre es activada por LPS (Fig.4).

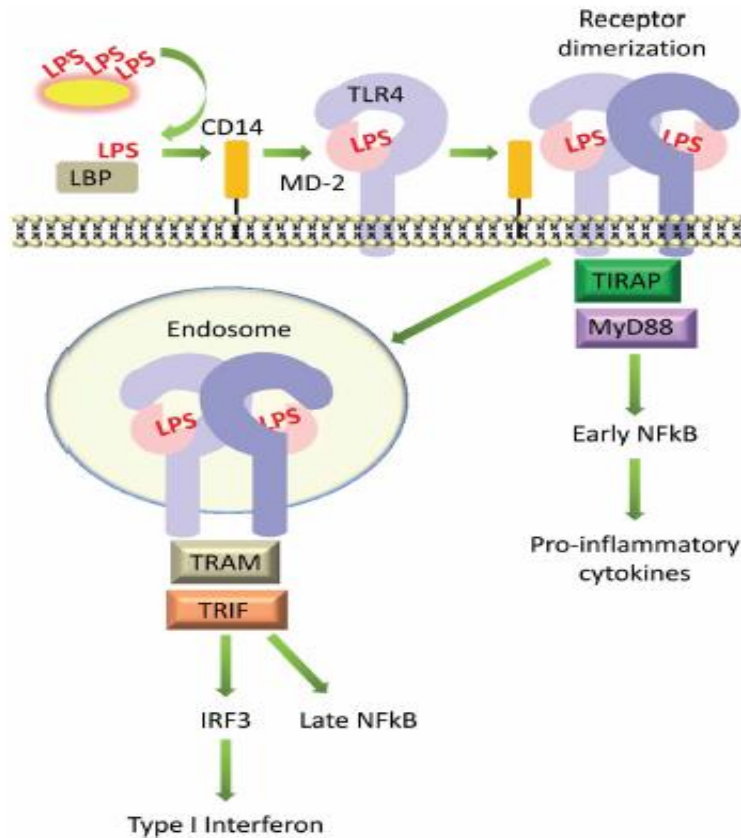


Figura 4. Cascada de activación de TLR4 mediada por LPS.

Tomado de: Maeshima et al, 2013 [46].

Se sabe que ratones deficientes en TLR4 tienen mayor susceptibilidad de desarrollar infecciones ante bacterias Gram negativas, mientras que la excesiva activación de NFkB los puede llevar a shock séptico.

En resumen, la habilidad de TLR4 para reconocer LPS es importante para la defensa del organismo, pero si no es controlada puede llevar a excesivas e indeseables respuestas inflamatorias [46].

A pesar de que la inflamación es beneficiosa como respuesta inmune a lesiones o infecciones, si resulta excesiva o inapropiada puede afectar negativamente la salud y contribuir al desarrollo de enfermedades agudas y crónicas.

La inflamación crónica resulta de la continuación de los mecanismos disparados durante la fase aguda que han fallado en su intento de eliminar la noxa que los originó, es decir, de la falla en el proceso de resolución de la inflamación.

El efecto beneficioso adjudicado a los ácidos grasos omega-3 en lo que respecta a su capacidad para contener y ayudar a resolver el proceso inflamatorio, estaría mediado por la producción de un variado espectro de sustancias denominadas resolvinas y protectinas, las cuales inhiben la actividad del factor NF-KB y con ello la activación de las cascadas de citocinas.

En algunas patologías, como en la enfermedad de Alzheimer, la resolución de la inflamación parece relacionarse con niveles elevados y mayor síntesis de lipoxina A, un derivado de ácidos grasos. Sumado a lo anterior, en personas con periodontitis agresiva se vio aumento local de síntesis de leucotrieno B, con actividad inflamatoria y significativa disminución de 15-HETE, 12-HETE, 14-HDHA y lipoxin A. Por su parte, eosinófilos provenientes de pacientes con asma también han mostrado disminución en la síntesis de una molécula denominada protectina D1, la cual se produce a partir del PUFA DHA.

Lo anterior soporta la propuesta de administrar ácidos grasos de la serie ω -3 para prevenir y tratar las enfermedades inflamatorias, lo que ha probado ser eficaz en modelos animales y humanos de retinopatía, periodontitis, cáncer de colon, hígado graso no alcohólico entre otros [47].

Estos compuestos, derivados fundamentalmente de los ácidos grasos EPA y DHA, se generan durante la etapa de resolución de la inflamación, actuando localmente en el sitio de la lesión. Entre sus acciones se destaca que disminuyen la infiltración leucocitaria e inhiben la expresión de genes de moléculas inflamatorias reguladas por el factor Nk-B [48].

Sin embargo, entender en toda su extensión el proceso de resolución de la inflamación aún dista de ser una realidad. Se conoce que involucra el tráfico de leucocitos, su proceso de eliminación (eferocitosis) y la regulación de la expresión de los mediadores de inflamación, incluyendo citocinas y activadores de coagulación.

Lo anterior permite evidenciar que es muy poco probable que se pueda hallar una única intervención terapéutica que sea efectiva para todos los procesos inflamatorios, especialmente considerando su carácter heterogéneo, sin embargo los esfuerzos dirigidos a entender su complejidad son un imperativo de esta época [49].

Lo anterior ha motivado el estudio de intervenciones dietarias con ácidos grasos de cadena larga poliinsaturados de las series ω 3 y 6, los cuales podrían servir de sustrato para aumentar la síntesis de mediadores de resolución.

Sin embargo, muchos son los cuestionamientos y escasas las respuestas sobre este tema. No es posible establecer aún si dietas individualizadas podrían ser una posible solución, tal vez con el apoyo de nuevas herramientas como los perfiles proteómicos o mejor aún metabolómicos, pudiera optimizarse la producción de metabolitos encargados de resolver la inflamación actuando como agonistas o antagonistas específicos de vías inflamatorias.

El futuro inmediato deberá brindar evidencias que permitan dilucidar estos cuestionamientos y los productos derivados de PUFA emergen como una posible alternativa para regular las vías fisiológicas en condiciones de inflamación no resuelta, como las que se presentan en los estados metabólicos relacionados con sobrepeso y obesidad, y su participación en el desarrollo de enfermedad vascular [50].

1.2.3 La resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina es un estado previo al desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 cuya presencia se asocia a aumento del riesgo y de la mortalidad por enfermedad cardiovascular.

El enlace entre factores medioambientales como la dieta y el estilo de vida indican que la progresión a diabetes debe ocurrir a través de un continuo de tiempo, no necesariamente lineal, que involucraría múltiples conexiones relacionadas con inflamación, vías metabólicas glucídicas y lipídicas, y procesos celulares incluyendo disfunción mitocondrial, cambios epigenéticos y estrés del retículo endoplásmico [51].

Una de las posibles vías de desarrollo de resistencia a insulina tiene relación con la secreción aumentada de factores quimioatrayentes provenientes de los adipocitos, los cuales inducen infiltración de macrófagos al interior del tejido adiposo. Entre estos factores se hallan el MCP-1, y citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa y la interleucina-6. A su turno, los macrófagos infiltrados también contribuyen con la liberación de TNF-alfa e IL-6.

El TNF- α se encarga de activar vías de señalización intracelulares que favorecen la fosforilación del sustrato del receptor de insulina 1 (IRS-1) en su residuo de serina, en lugar de la fosforilación normal en tirosina.

Este proceso anómalo de fosforilación produce resistencia a insulina en músculo, hígado y otros tejidos ya que impide la activación de la fosfoinositol 3 kinasa, la cual es la encargada de activar la protein kinasa Akt2 que tiene como función catalizar la translocación hacia membrana de los transportadores de tipo GLUT-4 para permitir el acceso de la glucosa a estos tejidos.

Sumado a lo anterior Akt2 no puede entonces ejercer su acción inhibitoria sobre la FoxO1 (Forkhead box protein O1), que es la encargada de incrementar la producción de glucosa por gluconeogénesis.

Ambos efectos terminan aumentando los niveles de glucosa circulante, ya que evitan su ingreso a las células al tiempo que aumentan su producción (Fig. 5).

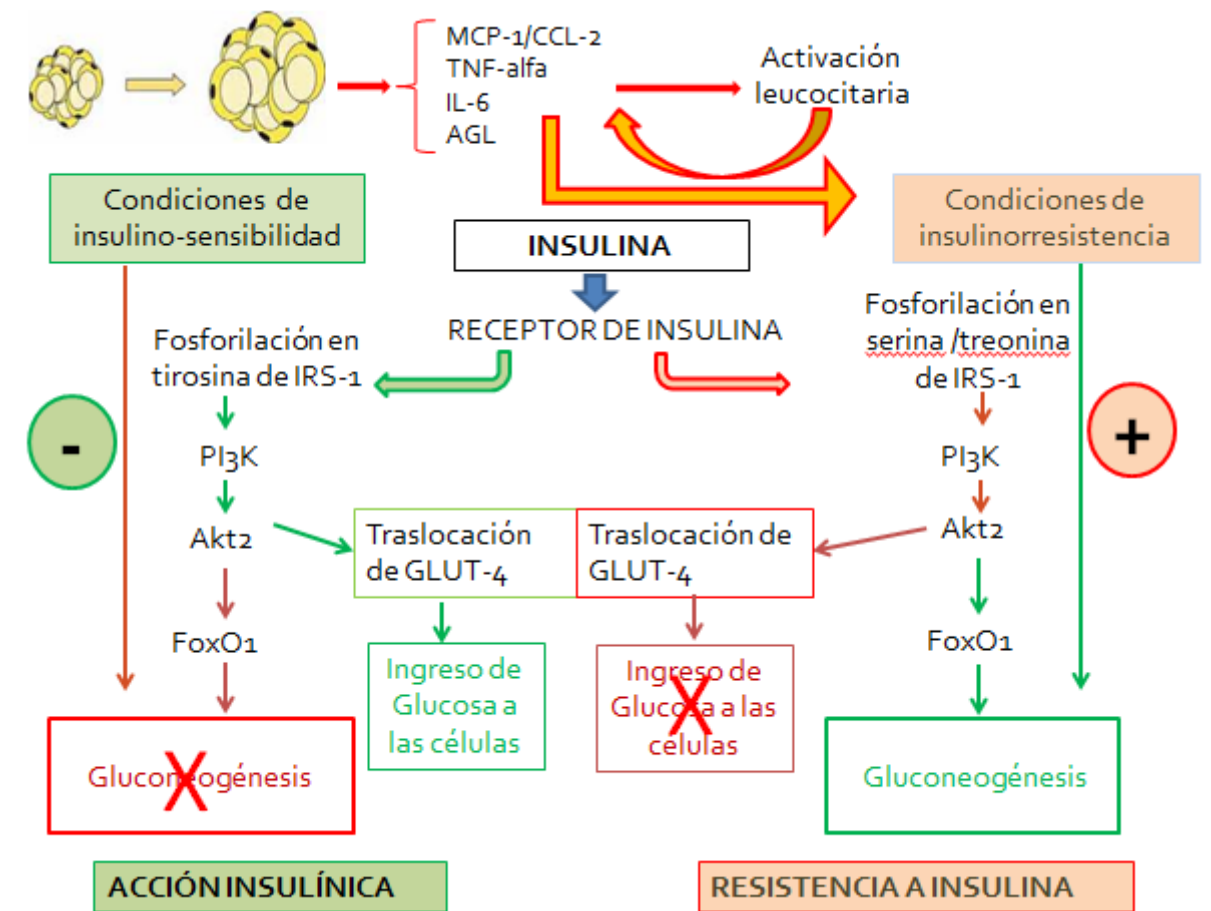


Figura 5. Cambios originados por la obesidad y su relación con insulinoresistencia.
Elaboración propia.

A su vez, los aumentos de TNF- α e IL-6 activan el factor nuclear de transcripción NF- κ B y el activador de proteína 1 (AP-1), los cuales incrementan la producción de citocinas inflamatorias como TNF- α e IL-6).

NF- κ B es responsable también de incrementar la expresión de factores de reclutamiento monocitario, moléculas de adhesión (ICAM-1 y VCAM-1, entre otras), y contribuir al estado inflamatorio del tejido adiposo, promoviendo estrés oxidativo y activando factores procoagulantes.

Más allá de las acciones paracrinas, es decir en el sitio de su producción, estas citocinas alcanzan circulación y afectan otros tejidos distantes en acciones de tipo endocrina, induciendo insulinoresistencia.

Sumado a lo anterior, el tejido adiposo en esas condiciones disminuye la producción de adiponectina. Bajos niveles de esta hormona se han asociado con aumento de factores proinflamatorios, disminución de antiinflamatorios e IR.

Un segundo mecanismo involucrado en el desarrollo de insulinoresistencia lo constituye el aumento de ácidos grasos libres a consecuencia de la lipólisis de triacilglicéridos y al incremento de los depósitos grasos en estados de obesidad. Los ácidos grasos libres han mostrado afectar la señalización de insulina en tejidos como músculo y otros, favoreciendo la fosforilación en serina.

Los ácidos grasos saturados contribuyen a la IR, de manera indirecta, favoreciendo la liberación hepática de Fetuina A, la cual se une y activa receptores tipo Toll (TLR-4), lo que induce también la fosforilación en serina, con los efectos antes mencionados. Se conoce que ratones sin receptores TLR no desarrollan IR ni inflamación cuando se los expone a ácidos grasos saturados, lo que soporta esta explicación [26].

La activación de NF- κ B y el aumento de VCAM-1 favorecen el ingreso de más monocitos al interior de la pared vascular, donde se convierten en macrófagos, fagocitan lipoproteínas y dan lugar a la formación de células espumosas y al inicio de la estría grasa, primera evidencia del desarrollo de la placa de ateroma.

En tercer lugar, los ácidos grasos saturados se pueden convertir en diacilglicerol y ceramidas, compuestos que han mostrado estimular la proteínquinasa C y dirigir la fosforilación de IRS-1 en serina, causando IR por disminución de la actividad de Akt.

Un cuarto posible mecanismo de desarrollo de IR lo constituye el hecho de que los ácidos grasos libres provenientes del tejido adiposo, pueden activar unas multiproteínas denominadas inflamomas, por interacción con receptores de

reconocimiento de patrones (NRLs), cuya activación producen un clivaje mediado por caspasas de múltiples citocinas proinflamatorias [52].

Un quinto mecanismo de desarrollo de IR parece estar a cargo de las células reclutadas al interior de los tejidos y la prolongación de su permanencia en ellos. Estas células participan tanto en el inicio de los procesos de inflamación como en su resolución.

En la primera fase, la liberación de compuestos proinflamatorios, así como el aumento en la expresión de moléculas de adhesión son responsables de mayor infiltración y mayor entorno pro inflamatorio. Su permanencia en los tejidos parece ser promovida por la presencia de elevados ácidos grasos libres, lo que impide que sean removidos en los tiempos normales y, con ello, se imposibilita la fase de resolución, perpetuando su acción inflamatoria y su contribución a la IR [26].

La edad en si misma se ha asociado con aumento de niveles de IL-6, lo cual a su vez se correlaciona positivamente con IR. El mecanismo es complicado y versátil ya que no solo previene el metabolismo no oxidativo de la glucosa sino que suprime la lipoprotein lipasa y con ello aumenta los niveles de triacilglicéridos circulantes [53].

Por su parte, células directamente relacionadas con inflamación como adipocitos y macrófagos, muestran un aumento importante en la expresión de moléculas relacionadas con su capacidad de reclutamiento celular e incremento de la respuesta inflamatoria.

Entre ellas, la proteína quimioatrayente de macrófagos (MCP-1) se ha visto aumentada en obesidad especialmente en áreas de grasa visceral, por lo cual se ha pensado que puede contribuir a la patogénesis de la IR ya que ratones sin el receptor correspondiente muestran menor depósito de grasa hepática y mejoran su sensibilidad a insulina [54].

1.2.4 La participación de las células mononucleares

La enfermedad cardiovascular involucra la formación de placas en vasos arteriales, proceso disparado principalmente por el ingreso y acumulación de partículas lipoproteicas modificadas por oxidación, glicosilación u otros procesos enzimáticos y no enzimáticos. Las lipoproteínas así modificadas son aterogénicas y desencadenan procesos proinflamatorios de carácter inmunológico.

Al interior de la íntima arterial macrófagos provenientes de monocitos circulantes, así como de células endoteliales pluripotenciales, participan activamente en la ingestión de lipoproteínas, las cuales se acumulan en su interior, dando origen a las células espumosas. En este estado, pierden su capacidad de migrar, razón

por la cual se convierten en focos de liberación de citocinas y quimocinas, favoreciendo la formación y posteriores complicaciones de la placa aterosclerótica.

En circulación, los monocitos también han mostrado expresar diferentes marcadores dependiendo del estado metabólico del individuo. El proceso sin embargo, comienza con la secreción de citocinas, quimocinas y con la expresión de moléculas de adhesión que promueven la interacción entre leucocitos y el endotelio, y guían la migración de los leucocitos.

Entre las citocinas proinflamatorias se encuentra el factor de necrosis tumoral (TNF-alfa) y la interleucinas, así como quimocinas del tipo CCL-2 (Chemokina C-C motif ligand-2) las cuales se liberan desde el tejido lesionado activando al endotelio en la expresión de moléculas de adherencia intercelular como la ICAM-1 y vascular (VCAM-1).

Como se expresaba anteriormente, mientras que la inflamación aguda es beneficiosa como parte del mecanismo de resolución del evento, su exceso o descontrol promueve la lesión. Formas solubles de VCAM-1 e ICAM-1 pueden causar activación en leucocitos y la quimiotaxis resultante contribuye al daño en los tejidos.

En presencia de factores que predisponen al desarrollo de enfermedad cardiovascular, los monocitos/macrófagos y el tejido adiposo contribuyen a aumentar el estado inflamatorio, mientras que factores circulantes como la resistina y el CD 14, se ha visto que modifican sus características y podrían incluso participar en su direccionamiento hacia diferentes destinos [55].

Para la primera parte del proceso, es indispensable la presencia de las selectinas y molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1) y de ICAM-1 en la superficie apical de los leucocitos a efectos de coadyuvar en las fases de rodamiento y adhesión, respectivamente.

Sin embargo, la sola activación leucocitaria no explica suficientemente de qué manera esos leucocitos logran el ingreso a través de las células endoteliales ni aclara el mecanismo implicado ni la participación del endotelio como agente permisivo para tal paso (Figura 6).

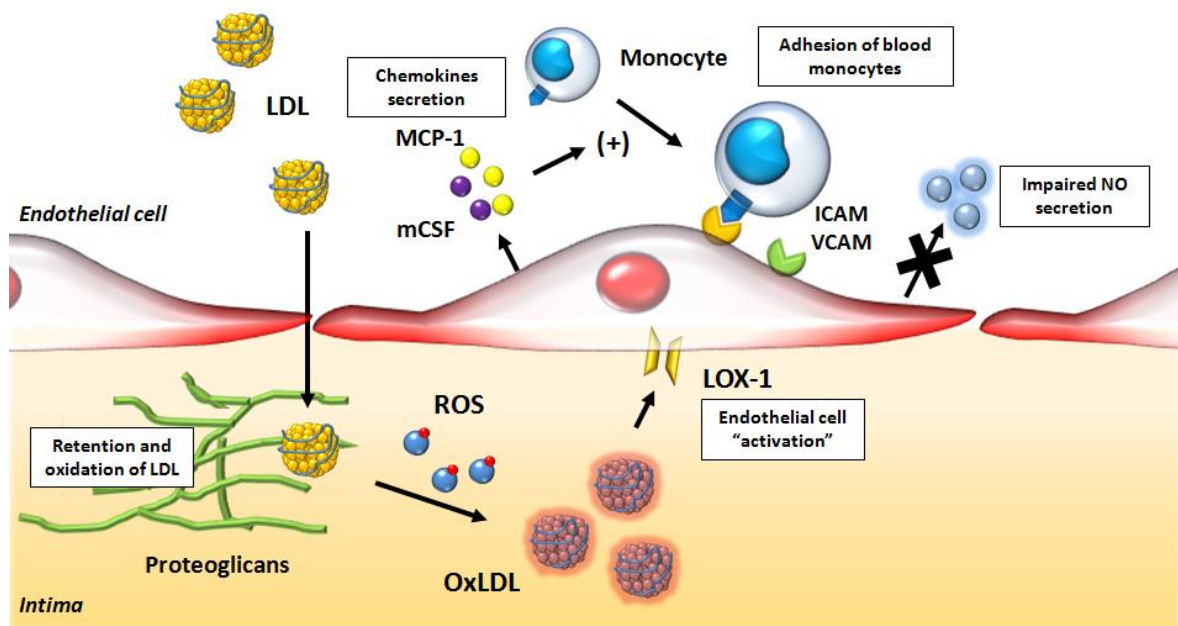


Figura 6. Inicio del proceso de formación de la estría grasa.

Tomado de Leiva et al, 2015 [56].

El ingreso de las células al interior de la pared vascular recibe el nombre de migración endotelial. Este pasaje puede llevarse a cabo por dos vías, la paracelular, en la cual la célula circulante atraviesa los sitios de unión entre dos células endoteliales y la transcelular o transendotelial que se lleva a cabo a través del cuerpo de alguna de las células endoteliales.

Aunque ambos sitios son utilizados, todo indica que uno u otro podría tomar lugar en sitios anatómicos diferentes y bajo diferentes condiciones, con mecanismos similares para diferentes tipos de leucocitos, sean polimorfonucleares o mononucleares.

El inicio de la migración transendotelial requiere la interacción de las moléculas de PECAM del leucocito y del endotelio, lo que produce aumento del calcio citosólico y promueve el reclutamiento de las membranas que conformarán el compartimiento de borde lateral reciclable, que es el responsable de permitir el paso leucocitario, a través de un conjunto regulado de acciones que involucran elementos del citoesqueleto como la polimerización de actina y la deformación local de estas estructuras para favorecer la transmigración [57, 58].

El estudio de las poblaciones de macrófagos en los sitios de lesión, se ha dificultado especialmente por la falta de modelos animales que reflejen exactamente lo que sucede en el humano, sin embargo se conocen dos vías principales de diferenciación de macrófagos: la M1, también llamada clásica, se

origina en respuesta a señalizaciones vía receptores tipo Toll (TLR) e interferón gamma, y se induce por la presencia de complejos moleculares asociados a patógenos (PAMPs), lipopolisacáridos y lipoproteínas.

El macrófago M1 secreta factores proinflamatorios como factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), interleucinas y chemocinas. Son responsables de la producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno las cuales contribuyen en la respuesta inflamatoria. Por otra parte, el macrófago M2 es inducido en respuesta a citocinas del tipo Th2 y posee propiedades antiinflamatorias, por lo que se lo considera responsable de regular y dirigir la respuesta inflamatoria hacia su resolución y la remodelación del tejido dañado [59,60].

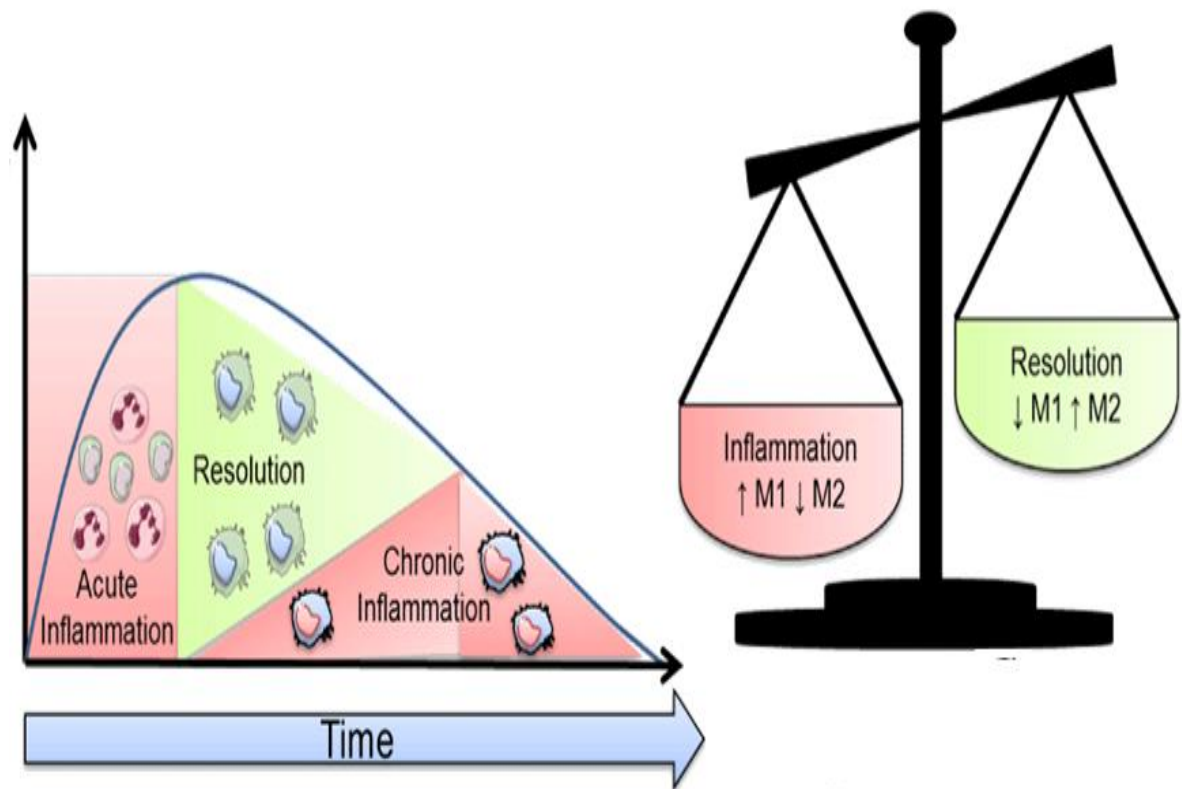


Figura 7. Etapas de comienzo, desarrollo y resolución del estado inflamatorio.
Adaptado de Halade, 2013.

Aunque ambos fueron hallados en placas ateromatosas, el M1 ocupó los sitios más inflamatorios de la lesión, mientras el M2 se ubicó en zonas de reparación y remodelación tisular [61].

En un estudio llevado a cabo por Daniele y cols en 2014, se evaluó el estado inflamatorio de bajo grado presente en personas con distintos grados de obesidad e IR, mediante un índice calculado a partir de los niveles de citocinas (TNF- α , IL-6, sMCP-1, osteopontina, fractalkina y adiponectina).

Sus resultados mostraron que el índice fue mayor en personas con diabetes al compararlos con personas que tuvieron tolerancia normal a la glucosa medida por clamp euglicémico ($10,0 \pm 1,1$ vs. $4,8 \pm 0,8$; $p=0,001$), y evidenciaron correlación directa con niveles de glucosa en ayunas y post prandiales y con hemoglobina glucosilada A1c ($r = 0,469$; $p=0,007$), e inversa con la sensibilidad a insulina [62].

Sorprendentemente, en este estudio no se observó correlación del estado inflamatorio con IMC ni con masa grasa corporal (14), lo que contrasta con otros resultados que muestran que la obesidad abdominal se asocia con inflamación de bajo grado, lo cual promueve el desarrollo de IR y desórdenes metabólicos (63).

La activación leucocitaria, se ha mostrado relacionada con la presencia de distintos grados de sensibilidad a insulina e hiperglucemia, tal como demuestra un estudio de activación leucocitaria por citometría de flujo en personas sometidas a una carga de 75 g de glucosa.

En este estudio, la expresión de CD66b en neutrófilos en ayunas correlacionó con el área bajo la curva de glucosa y hemoglobina glucosilada A1c, mientras que los niveles de expresión de CD11b en monocitos fue un 26% mayor en diabéticos, y correlacionó positivamente con AUC de glucosa y hemoglobina glucosilada A1c ($\rho 0.322$; $p = 0.022$) HbA1c ($\rho 0.319$; $p=0.023$).

Estos resultados lograron evidenciar que la sensibilidad a insulina está relacionada con activación leucocitaria y, más aún, la correlación hallada entre respuesta postprandial y la activación leucocitaria indican la existencia de un efecto agudo de la glucosa, mientras que la relación con los niveles de hemoglobina glucosilada A1c permiten mostrar también la responsabilidad de la hiperglucemia crónica en la activación leucocitaria [62].

Desde hace más de una década se ha resaltado la utilidad del estudio de los perfiles de expresión genética en células circulantes, especialmente por la relativa facilidad de su obtención, lo que evitaría procedimientos invasivos y limitados por razones bioéticas, y las evidencias que muestran que reflejan de manera importante los cambios asociados con distintos estados metabólicos, aun cuando su aplicabilidad clínica es limitada [64].

Estudios que incluyeron infusión aguda de lípidos y glucosa en personas saludables, obesas y con diabetes mellitus mostró que la respuesta a la intervención resultó diferente. Este estudio incluyó la medición de citocinas y

quimiocinas circulantes (MCP-1, IL 1 y 8, entre otras), así como expresión del receptor de CCL-2 (denominado CCR2) y NFkb, por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR), y distintos marcadores por citometría de flujo en células mononucleares circulantes.

Sus resultados mostraron que la glucosa sola produjo menos efecto al compararla con lípidos solo o en conjunto, lo que sugiere que los lípidos podrían contribuir más a las modificaciones agudas, mientras que la glucosa podría ser más activa en su efecto a largo plazo.

Los efectos fueron diferentes, dependiendo del estado metabólico del individuo. En lo que respecta a la expresión de NF-kb y CCR-2, no se observó diferencia significativa en respuesta a las intervenciones de glucosa y lípidos, individual o conjunta, aunque fue notoria la diferencia entre individuos en condiciones basales, especialmente en el grupo con diabetes, lo que podría indicar que dicha expresión estaría reflejando estados inflamatorios previos mientras que los cambios de estados agudos necesitarían un tiempo de observación más prolongado [65].

Otro estudio, en hombres con distintos estados metabólicos mostró que la expresión de los genes de IL-6, IL-1b y TNF-alfa fue mayor en los pacientes con diabetes, independiente de la obesidad, y en los de peso normal, lo que resulta coherente con el aumento de marcadores de estrés oxidativo y estados de apoptosis de células beta pancreática en estados de IR y diabetes [66].

Lo expuesto permite concluir que las respuestas postprandiales parecen estar sujetas al estado metabólico del individuo, pero dependen del contenido de la ingesta, lo que abre un prometedor campo de intervención tendiente a mejorar el impacto cardiovascular de la alimentación mediante la mejora en la calidad y cantidad de los alimentos que se consumen.

1.3 INTERVENCIONES NUTRICIONALES

Buena parte de la responsabilidad del desarrollo de los estados metabólicos ligados a los componentes del síndrome metabólico (obesidad, dislipidemia, resistencia a insulina e hipertensión) se ha relacionado con los cambios en estilos de vida que producen desbalance entre ingesta calórica y gasto, con un aumento en alimentos hipercalóricos y sedentarismo.

El consumo de alimentos ricos en grasas inicia un complejo proceso que involucra instancias inflamatorias, activación leucocitaria, resistencia a insulina, disfunción endotelial y desarrollo de enfermedad cardiovascular (Figura 8).

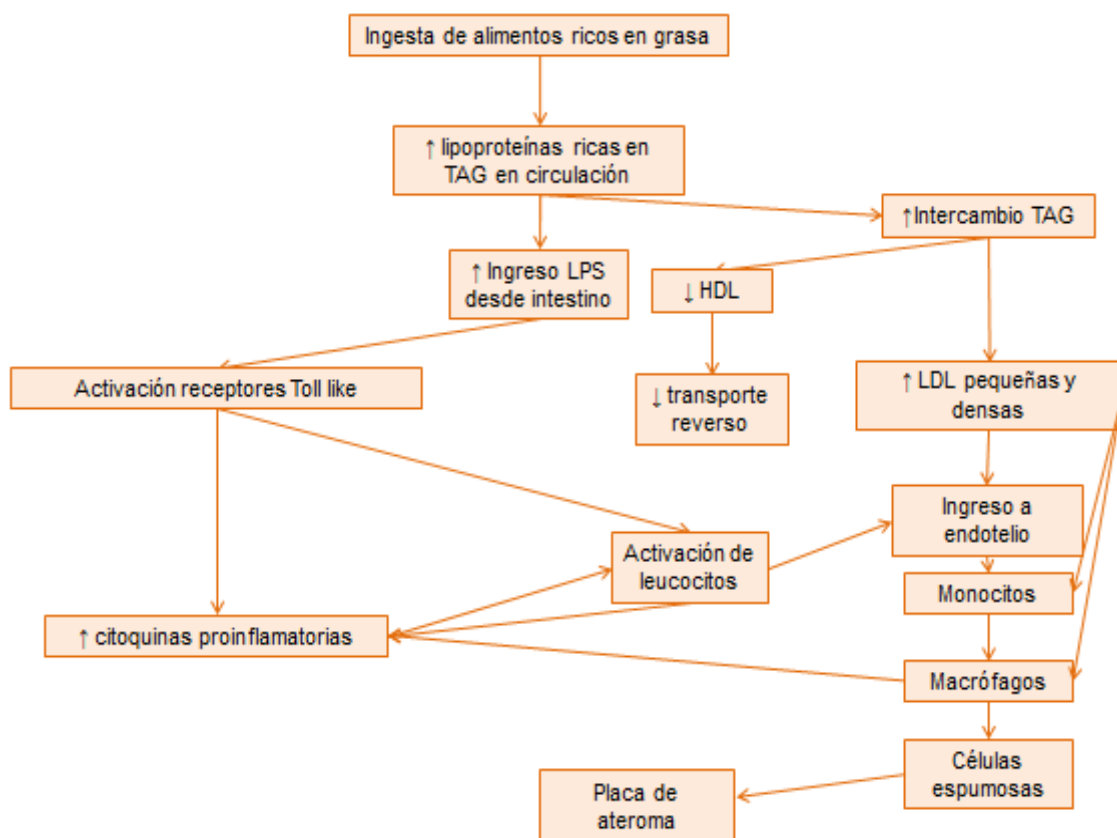


Figura 8. Relaciones implicadas en la vía inflamatoria provocada por la ingestión de una comida rica en grasas.

Modificado a partir de Teeman et al, 2016 [67].

Es un hecho conocido que las ingestas han variado considerablemente con el paso del tiempo, tanto en cantidad como en calidad.

El aumento en el consumo de azúcares refinados, derivados de una mayor ingesta de bebidas azucaradas y dulces de diferentes tipos, se ha visto acompañada de un aumento del consumo de ácidos grasos que pasó de 93 g/día en 1961 a 128 g/día en 1990 en población europea, con un cambio sustancial también en la composición.

Estos cambios incluyeron el aumento de su contenido de ácidos grasos saturados y una sensible disminución de la ingesta de n-3 PUFA respecto a n-6, lo que se aleja considerablemente de las características de la nutrición de nuestros ancestros y se ha reflejado en el aumento de las prevalencias de obesidad y sus trastornos asociados como el síndrome metabólico, la diabetes mellitus tipo 2 y la enfermedad cardio y cerebro vascular [68].

Un metanálisis llevado a cabo por Manheimer et al, que incluyó intervenciones en las cuales compararon dietas actuales con dietas de perfil paleolítico en sujetos con uno o más componentes del síndrome metabólico, permitió evidenciar las ventajas derivadas de restringir el consumo de azúcares refinados y los productos con elevado índice glucémico, así como de disminuir la relación entre los ácidos grasos ω -6/ ω -3, soportando las recomendaciones para el uso de estrategias nutricionales derivados de estos hallazgos [69].

Entre los hallazgos importantes está el hecho de que los efectos relacionados con el metabolismo de las grasas no solo dependen de la cantidad sino también del tipo de ácido graso involucrado, es decir, de la longitud de la cadena carbonada y de su estado de saturación [70].

Los ácidos grasos de cadena larga (18-20 carbonos o más) pueden clasificarse de acuerdo con la presencia y posición de dobles enlaces. Cuando no tienen dobles enlaces se denominan saturados (AGS) e insaturados en caso contrario. Éstos últimos pueden dividirse en monoinsaturados (MUFA) cuando solo tienen un doble enlace o poliinsaturados (PUFA) cuando presenten dos o más (Fig.9).

Por su parte, dependiendo de la posición de la insaturación se los divide en series, con una nomenclatura que incluye el número del carbono contado a partir del metilo terminal que lleva el primer doble enlace, precedido por la letra ω . Así, se tienen los AG ω -9 entre los que se encuentra el ácido oleico presente en grasas vegetales y animales, los ω -6 como el ácido linoleico presente en los aceites vegetales, y los de la serie ω -3 cuyos representantes más estudiados han sido el EPA, el DHA, de origen marino y el α -linolénico (ALA), hallado en algunas especies vegetales [71].

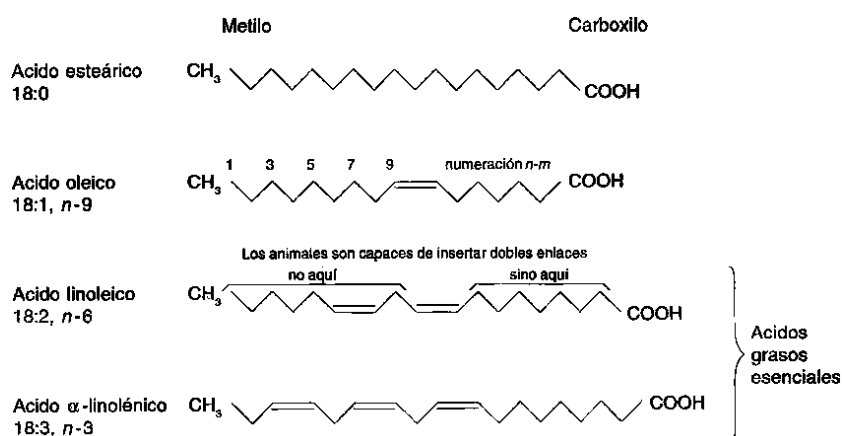


Figura 9. Estructura molecular de los ácidos grasos.

Tomado de: <http://www.fao.org/docrep/V4700S/v4700s00.gif>

Estudios de niveles de ácidos grasos libres en obesos han mostrado que en ayunas éstos se encuentran en niveles superiores a los hallados en no obesos, aunque discretamente influenciados por la IR o la presencia de diabetes [10], y que los efectos en la secreción postprandial de insulina y la sensibilidad en la respuesta es diferente dependiendo de las características del ácido graso ingerido [72,73].

Como parte de las dietas habituales se obtienen todo tipo de ácidos grasos, lo que hace que su deficiencia sea muy rara y sus metabolitos suelen ser componentes bioactivos como prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, lipoxinas y resolvinas entre otros.

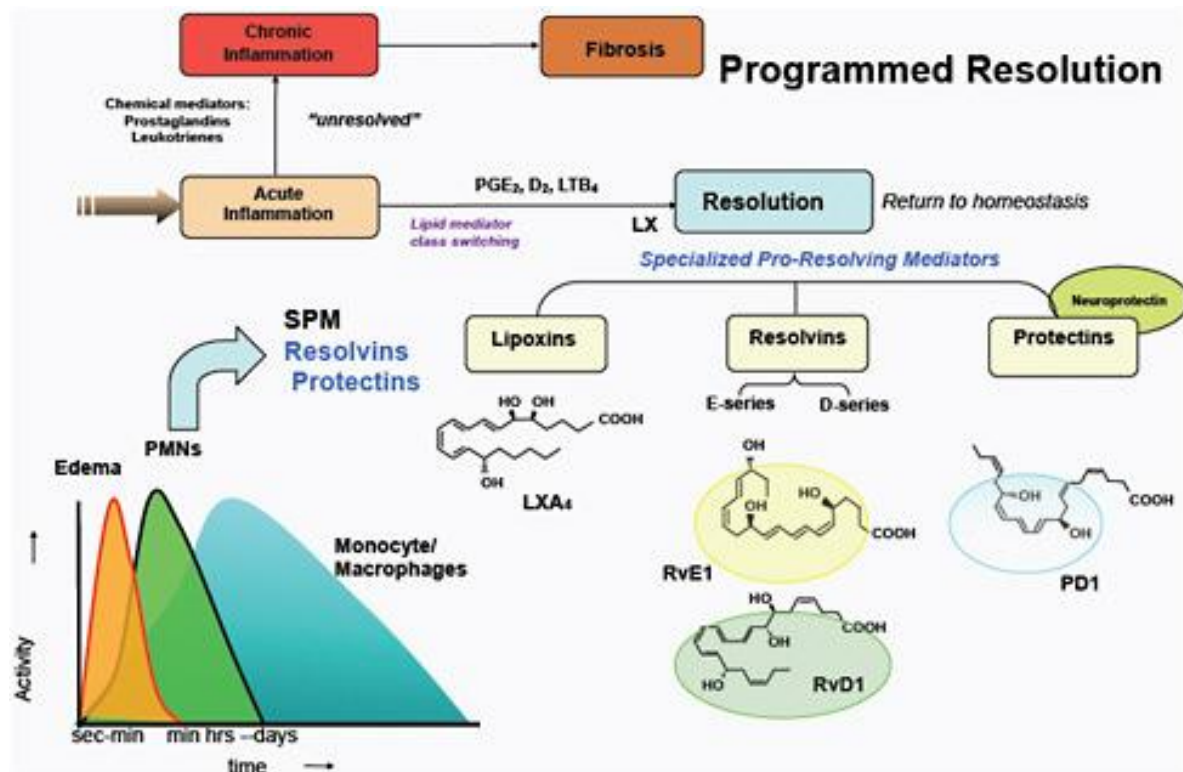


Figura 10. Metabolitos relacionados con las fases de desarrollo y resolución de la inflamación

Tomado de Serhan, 2011 [74].

Dada las evidencias actuales parece altamente deseable incluir alimentos que aporten ácidos grasos insaturados especialmente de la serie 3, en reemplazo de los ácidos grasos saturados que se han relacionado con enfermedad cardiovascular [75].

Sumado a lo anterior, la evidencia ha mostrado que ciertos ácidos grasos libres aumentados en circulación son marcadores de incremento en los riesgos de diabetes y ECV. Un estudio multiétnico, llevado a cabo en 5697 participantes seguidos durante 11,4 años, mostró una relación significativa entre menor cantidad de ácidos grasos omega 3, en relación con el total de ácidos grasos no esterificados, y la presencia de diabetes tipo 2 [76].

Por su parte, el contenido de ALA en tejido adiposo correlaciona negativamente con HOMA-IR, con mayor fuerza en sujetos delgados, lo que podría otorgar al consumo de este ácido graso un papel en la prevención de la resistencia a insulina, especialmente en ausencia de obesidad [77].

La dieta mediterránea, de reconocido impacto positivo sobre la salud cardiovascular, posee además una elevada relación entre ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos saturados (AGM/AGS), lo cual ha mostrado ser beneficioso mejorando la distribución de las lipoproteínas plasmáticas, reduciendo los niveles de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) y aumentando los de lipoproteínas de alta densidad (cHDL), así como protegiendo contra la peroxidación de lípidos y de lipoproteínas dado su contenido en tocoferoles, tocotrienoles, β -caroteno y diferentes compuestos fenólicos con una potente acción antioxidante [78].

Estudios con EPA y DHA en diferentes dosis mostró que las dosis elevadas (8 semanas, 3,4 g EPA+DHA/día) mostró ser efectiva para disminuir los niveles de TAG, comparado con un grupo que recibió placebo, aunque no se observaron efectos sobre colesterol total ni HDL, ni sobre los niveles de marcadores inflamatorios ni la expresión de los mismos en PBMC [79].

La manera como se llevan a cabo los efectos beneficiosos de los ácidos grasos omega-3 parece estar ligado a la producción de los metabolitos activos antes mencionados, denominados resolvinas y protectinas, las cuales a su vez parecen incidir en la expresión de adiponectina y contribuir a la resolución del cuadro inflamatorio.

Los estudios a la fecha parecen indicar que estos derivados disminuyen la relación de macrófagos M1/M2, con lo cual el perfil es menos inflamatorio, al tiempo que parecen favorecer la sensibilidad a insulina en tejidos periféricos facilitando la translocación de GLUT-4 y disminuyendo moléculas proinflamatorias, acumulación de macrófagos en tejidos y activación de receptores Toll like, entre otros, lo que podría ser parte de la explicación de la relación inversa entre IR y ALA encontrada por Heskey y cols [77] en tejido adiposo obtenido de personas aparentemente saludables.

Sin embargo, no obstante la evidencia que relaciona el consumo de ácidos grasos omega 3 provenientes de aceites de pescado (ricos en EPA y DHA) o de especies vegetales (ricos en ALA), suele mostrar mejores resultados sobre los lípidos que sobre el desarrollo [80,81] o control de la diabetes mellitus tipo 2 [82].

En efecto, la ingesta de EPA y DHA se ha visto asociada con disminución de las cifras de TAG y presencia de menos desenlaces fatales de enfermedad cardiovascular. En pacientes con hipertriacilgliceridemia, su consumo disminuyó TAG y no alteró colesterol no HDL, aunque produjo un ligero aumento de LDL-C [83].

Evidencias provenientes de estudios controlados y aleatorizados han soportado las recomendaciones de la asociación americana del corazón (AHA) de incluir el consumo de grasas provenientes de pescado 2 veces por semana, acompañado de ácidos omega-3 provenientes de plantas, en individuos saludables y un suplemento en la ingesta de 1g/día de EPA y DHA en personas con enfermedad coronaria [84].

Un meta análisis que incluyó intervenciones nutricionales con complementaciones con omega-3, no logró demostrar con suficiente fuerza de evidencia que fueran efectivas para tratar las hipertriacilgliceridemias [85].

Sin embargo, analizando sistemáticamente intervenciones con ALA proveniente de fuentes vegetales, otros autores concluyeron que la exposición a altas concentraciones de este ácido graso se asocia con moderada fuerza a menor riesgo cardiovascular, y su consumo pudiera ser beneficioso y recomiendan adelantar más estudios a fin de fortalecer la evidencia [86].

Bermúdez (2014) probó alimentos diseñados variando cantidad total de grasa y contenido de ácidos grasos de distintos tipo y sus resultados permitieron mostrar que los ácidos grasos insaturados como el ALA se relacionaron con mejor control glucémico al compararlo con ácidos grasos saturados como el palmítico (16:0) y esteárico (18:0) [73].

Las algas contienen compuestos con actividad antiinflamatoria, tales como ácidos grasos omega 3 y clorofilas, por lo que sus extractos han sido probados con la intención de evaluar su efectividad en estados inflamatorios crónicos como los que acontecen en la enfermedad cardiovascular. Estudios in vitro mostraron que el pretratamiento con estas algas disminuye la respuesta inflamatoria de macrófagos THP-1 ante el estímulo con lipopolisacáridos y la expresión de 14 genes proinflamatorios, entre los que se cuentan los receptores tipo Toll, y moléculas de adhesión [87]. Similares resultados fueron obtenidos in vitro en PBMC [88].

Por variadas razones, entre ellas la seguridad de su consumo, ha llevado a adelantar estudios con aceites provenientes de fuentes distintas a las marinas, en las cuales los perfiles de ácidos grasos pudieran suplir esa necesidad [89], eliminado además los riesgos asociados a la contaminación [90,91].

Los resultados obtenidos, con intervenciones de distinta naturaleza han puesto de manifiesto que las variaciones metabólicas e inflamatorias postprandiales, incluyendo la hiperlipidemia, deben ser consideradas un potencial factor de riesgo residual, especialmente cuando están asociadas a otros desórdenes con la insulinoresistencia y tomando en consideración que la mayor parte del día es un estado postprandial, por lo que la evaluación de este periodo podría ser mucho más útil que las tradicionales medidas en ayunas [92].

1.3.1 Importancia del contenido de la ingesta en el impacto postprandial

Hace ya más de 30 años, Zilversmit [93] sugirió que la lipemia postprandial jugaba un papel importante en el proceso aterogénico idea que, aunque no fue muy aceptada en ese momento, se ha visto respaldada por estudios clínicos y epidemiológicos así como con la evidencia acumulada a lo largo de los años.

Sumado a lo anterior, la progresión de los estados ateroscleróticos se ha visto relacionada con la disminución en el aclaramiento de las lipoproteínas ricas en triacilglicéridos (LRT), y con los niveles en ayunas y postprandiales de TAG, los cuales también parecen estar implicados en el aumento de riesgo cardiovascular prematuro que muestran personas con condiciones metabólicas como la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2 y el síndrome metabólico [94].

Por su parte, el impacto que se produzca se ha visto relacionado con la cantidad y contenido consumido. Así, si la ingesta estuvo constituida por un alimento con elevado contenido de grasas o carbohidratos, los cambios producidos incluyen el desarrollo de entornos pro-inflamatorios, caracterizados por el aumento de LRT y de los niveles de lipopolisacáridos (LPS), los cuales resultan en estímulos que promueven la acumulación de lípidos celulares y favorecen el desarrollo de IR, junto con el aumento de marcadores inflamatorios y la formación de células espumosas [95].

En efecto, las LRT postprandiales generan disfunción endotelial, probablemente a través de mecanismos que incluyen perturbaciones en el glicocalix que recubre las células endoteliales, y parecen involucrar la secreción de citocinas proinflamatorias relacionadas también con la activación de receptores tipo Toll (TLR-4) y el incremento de LPS.

El estado inflamatorio y la disfunción, a su vez, favorecerían las interacciones adhesivas entre endotelio y células leucocitarias circulantes, lo cual a su turno permitirían mayor tiempo de contacto y posterior extravasación. El pasaje de células leucocitarias al interior de la íntima arterial parece estar regulada por una serie de moléculas y receptores que organizan, modulan y dirigen la formación de un complejo de borde lateral o el paso directo a través de la célula endotelial los cuales, en todos los casos, involucran reordenamientos de la estructura celular y su microesqueleto [57].

La hiperlipemia postprandial y la acumulación de remanentes de lipoproteínas son disturbios asociados a la disfunción endotelial y podrían explicar el desarrollo de procesos aterogénicos. Estas lipoproteínas, una vez adheridas a la pared vascular, pueden penetrar y ser fagocitadas por los macrófagos, dando origen a las células espumosas. Por otra parte, poseen la capacidad para activar leucocitos, aumentar la expresión de moléculas de adhesión y favorecer su entrada al espacio subendotelial y la activación del sistema de complemento y depósitos de calcio, contribuyendo de esa forma con el desarrollo del proceso inflamatorio y el crecimiento de la placa de ateroma [38,96,97].

Estudios en individuos saludables mostró que quienes respondieron con mayor aumento de TAG a una sobrecarga grasa presentaban diferencias fenotípicas y genotípicas apreciables respecto al grupo que respondió con menores incrementos. La respuesta mayor se observó en el grupo con menor edad pero mayor perímetro de cintura y TAG en ayunas, lo que muestra la influencia de los estados metabólicos y la carga genética durante esta etapa [98].

Por su parte, análisis lipidómicos con medidas repetidas también fueron consistentes en mostrar que ciertos lípidos específicos se mostraban modulados por el nivel de ejercicio aeróbico, lo que permite evidenciar que las respuestas postprandiales, específicamente los niveles de TAG y HOMA, estarían bajo la influencia de factores del ambiente tales como dieta y ejercicio físico [99].

En adolescentes obesos se constató que, la exposición a una dieta rica en grasa por cinco días provocó un incremento tanto en los niveles de LPS en ayunas como en la respuesta a una carga grasa, al tiempo que modificó la respuesta metabólica y transcripcional en músculo esquelético aunque sin modificación del índice HOMA-IR. De acuerdo con estos resultados, podrían existir adaptaciones biológicas tempranas a la ingesta de comidas ricas en grasa, diferentes de acuerdo con la ingesta acostumbrada por el individuo, lo cual favorecería el desarrollo de IR [100].

Estudios en mujeres saludables sometidas a dietas con diferentes cantidades de grasas totales y diferentes relaciones de ácidos grasos mostró que una comida rica en grasas de tipo saturadas se asoció con mayor secreción de insulina y

elevación del péptido inhibitorio gástrico, aunque mantuvo iguales niveles de glucosa [101].

Se sabe que el tejido adiposo en situación de IR pierde parte de su capacidad para amortiguar el incremento de TG por lo tanto ello produce un sobre flujo hacia otros tejidos, como por ejemplo el músculo esquelético. La ingesta de comidas grasas mixtas, con distintos tipos de ácidos grasos, mostró que la respuesta de glucosa e insulina (AUC) fue mayor tras la ingesta de AGS al compararlo con PUFA y que éstos últimos además desfavorecieron el ingreso de ácidos grasos a músculo lo que podría resultar en un evento protector contra el desarrollo de IR en este tejido.

En cultivos de células musculares, se ha visto que los AGS se acumulan en forma de diacilglicerol y activan proteína C kinasa con aumento de IR, mientras que los PUFA se convierten más rápidamente en TAG. Estos efectos diferenciales, sumado a acciones específicas sobre factores de transcripción y vías intracelulares podrían explicar sus efectos, aunque se requieren más estudios [102].

Las evidencias derivadas de estudios con intervenciones postprandiales sugieren que la cantidad y calidad de la grasa ingerida se relaciona con modificaciones hormonales [103], así como en los indicadores de metabolismo de glúcidos y lípidos, incluyendo la acreción y acción insulínica [104], así como en la expresión de genes relacionados con estrés oxidativo e inflamación [105,106], y los cambios parecen depender del estado metabólico del individuo [107].

La importancia local del estudio del impacto de la alimentación en la etapa postprandial, surge de considerar que las muestran que en Colombia, y más específicamente en Cartagena, los individuos pasan la mayor parte de su vigilia en condiciones postprandiales y el tipo de comidas de preferencia son los alimentos ricos en grasas.

Una investigación en estudiantes universitarios de Cartagena mostró que la mayor parte de los jóvenes consumen siempre sus tres comidas, pero con un inicio de alimentación con desayuno tardío (entre 8 y 9 a.m.) [22] similar a los hallado en otras ciudades del país, y el 78,8 % de los estudiantes consumen más de cinco comidas principales diarias, lo que los mantiene en estado postprandial la mayor parte del día, con un bajo consumo de frutas y elevado de comidas hipercalóricas de alto contenido graso especialmente por la preferencia hacia técnica culinaria de frito [108].

Esta característica de permanecer en estado postprandial la mayor parte del día, con generación permanente de LRT, podría otorgar a la etapa postprandial un posible papel como diana de intervención para prevenir o corregir el avance de los procesos cardiovasculares [109] y ha motivado la búsqueda de biomarcadores

idóneos que permitan identificar cambios agudos producidos tras la ingesta de alimentos [110].

Este esfuerzo ha permitido sumar a los perfiles tradicionales de biomarcadores, entre ellos los perfiles lipídicos y de carbohidratos, moléculas relacionadas con inflamación tales como citocinas y LPS y enzimas relacionadas con procesos crónicos como envejecimiento, cáncer y enfermedad cardiovascular, entre ellas una familia de proteínas denominadas sirtuinas [4].

Estas proteínas con actividad enzimática pertenecen a una familia de deacetilasas altamente conservadas [111] cuya expresión ha sido reconocida como un importante regulador de las modificaciones posttranscripcionales que afectan un amplio rango de procesos celulares, entre los cuales vale resaltar el envejecimiento y la respuesta a la inflamación [112].

A este respecto, se reconoce actualmente que uno de los miembros de la familia, la SIRT-1, ejerce su efecto a través de un eje conformado por el factor nuclear kappa beta (NF- κ B), el cual habíamos mencionado en los apartes de este documento relacionados con inflamación e IR.

En células de piel se ha observado que SIRT-1 atenúa la respuesta inflamatoria generada por LPS y es responsable de la actividad antiinflamatoria de diversos compuestos [113].

En ratones, se observó que los aceites de la dieta regulan negativamente SIRT1, probablemente a través del eje que involucra lipopolisacáridos y, en consecuencia, esta enzima podría constituirse en el enlace entre inmunidad y control epigenético mediado por SIRT1 en la génesis del estrés vascular asociado con la dieta [114] y ser reguladas por ciertos ácidos grasos [115].

De acuerdo con experimentos llevados a cabo en animales que ingirieron distintos tipos de ácidos grasos, la regulación de SIRT-1 podría estar relacionados con procesos de inmunidad innata, posiblemente a través de ejes que involucran LPS y receptores Toll like tipo 4 y controles epigenéticos mediados por esta enzima en la génesis del estrés vascular asociado a dieta [116].

Estudios en humanos han permitido establecer una disminución en la expresión de SIRT-1 en monocitos circulantes extraídos de enfermos coronarios [4] y en leucocitos circulantes luego de una comida rica en grasa [117,118].

Sin embargo, los estados circulantes inflamatorios que se verifican en la etapa postprandial y con mayor fuerza en presencia de obesidad, no se producen de igual manera en tejido adiposo lo que podría corresponder a una respuesta normal de este tejido, o una capacidad disminuida de respuesta o ser el resultado de la

diferencia en masa del tejido [118], situación que sugiere que la capacidad de respuesta al reto alimenticio también sería distinta dependiendo del volumen y estado metabólico del sujeto, aunque fuertemente relacionado con el contenido de su ingesta.

En tal sentido, se han propuesto alternativas de complementación con distintos aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados, los cuales han mostrado ser una buena opción tanto en lo que respecta a su menor impacto en variables de tipo inflamatorias como en lo que respecta a mejores respuestas relacionadas con el metabolismo de los glúcidos y los lípidos, sin el riesgo de acarrear contaminantes de origen marino.

Entre las propuesta actuales se halla el aceite extraído de las semillas de una especie oleaginosa con elevado contenido de PUFAs, denominada *Plukenetia volubilis*, más conocida como Sacha inchi.

Comparado con aceites y grasas de otros orígenes, el aceite de Sacha inchi muestra ser uno de los de mayor contenido en este tipo de ácidos grasos, como se muestra a continuación:

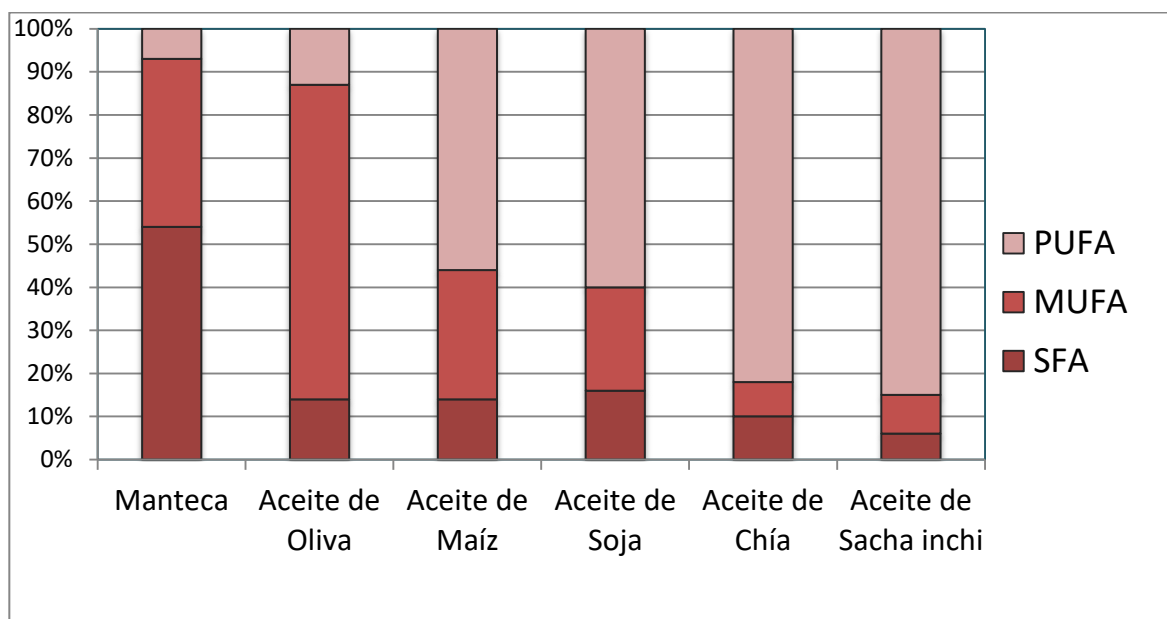


Figura 11. Contenido porcentual de ácidos grasos en grasas de distintos orígenes.

Adaptado de: U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrition Data Laboratory. USDA National Nutrient Database for Standard Reference y Gutierrez, 2014 [119, 120]

1.3.2 Aceite de Sacha inchi. Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* Linneo): a wasted ancestral experience? Clinical evidence related to its consumption. Rev Chil Nutr Vol. 43, Nº2, 2016 DOI 10.4067/S0717-75182016000200009

La *Plukenetia volubilis* es una planta trepadora también conocida como Sacha Inchi, término que proviene de dos palabras quechuas: 'sacha' que significa silvestre, e 'inchi', cuyo término hace referencia al maní.

De su semilla se extrae un aceite rico en proteínas, antioxidantes y ácidos grasos poliinsaturados omegas 3,6 y 9, con elevado potencial agro tecnológico, con aplicaciones en las industrias alimentarias humanas y animales, así como cosméticas.

En los últimos años se ha evidenciado un notable avance en publicaciones de resultados de investigaciones sobre el cultivo de las plantas de Sacha Inchi y la caracterización de sus partes y derivados, así como un desarrollo investigativo en lo biológico que ha permitido demostrar en animales y humanos su seguridad y su efecto hipotriglicéridemiente.

Sin embargo, a pesar de ello, no existen a la fecha datos científicos que permitieran evaluar los beneficios del consumo de este aceite en condiciones similares a las de su uso potencial como complemento alimenticio.

Por ello, se indagaron las características de esta planta y sus posibles usos, producto de lo cual se derivó un artículo de revisión temática, publicado en la Revista Chilena de Nutrición perteneciente a Sociedad Chilena de Nutrición, Bromatología y Toxicología (ISSN: 0716-1549, versión On-line ISSN 0717-7518).

Sacha Inchi (*plukenetia volubilis* linneo): ¿una experiencia ancestral desaprovechada?: Evidencias clínicas asociadas a su consumo.

Rev Chil Nutr (2016). 43(2):167- 171. DOI 10.4067/S0717-75182016000200009. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v43n2/art09.pdf>

Alicia Norma Alayón; Isabella Echeverri J.

RESUMEN

Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) es una planta oleaginosa trepadora que crece en países como Perú, Bolivia y Colombia. Es una excelente fuente de ácidos grasos insaturados, fundamentalmente alfa linolénico (C18:3) y linoleico (C18:2), que representan aproximadamente 82% del contenido total del aceite. Sacha Inchi ha sido parte de la dieta de indígenas desde la antigüedad y es visto en la

actualidad como un cultivo prometedor. Por su composición en ácidos grasos esenciales y su alto contenido en tocoferoles y antioxidantes, la recomendación de su consumo en la dieta habitual puede ser una estrategia encaminada a la prevención de enfermedades cardiovasculares en poblaciones de América Latina, en las que el consumo de aceite de oliva, reconocido por sus propiedades cardioprotectoras, es bajo. Este artículo tiene por objetivo hacer una revisión de la literatura publicada en relación con la inocuidad, aceptabilidad e impacto sobre la salud, del aceite de Sacha Inchi.

Palabras clave: Sacha Inchi; *Plukenetia volubilis* L; ácidos grasos; alimento saludable; riesgo cardiovascular.

ABSTRACT

Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) is an oleaginous climbing plant that grows in countries like Peru, Bolivia and Colombia. It is an excellent source of unsaturated fatty acids, mainly alpha linolenic (C18:3) and linoleic (C18:2), which represent approximately 82% of total oil content. Sacha Inchi has been part of the diet of native people of the region since ancient times and is seen as a promising crop today. Due to its composition of essential fatty acids and its high content of antioxidants and tocopherols, the re-recommendation of its consumption in the diet can be a strategy for the prevention of cardiovascular disease in populations of Latin America, as olive oil consumption known for its cardioprotective properties, is typically low in these populations. The aim of this article is to review the published literature regarding the safety, acceptability and health impact of Sacha Inchi oil.

Key words: Sacha Inchi; *Plukenetia volubilis* L; fatty acids; healthy food; cardiovascular risk.

INTRODUCCIÓN

Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) es una planta generalmente trepadora o liana, catalogada por primera vez en 1753 por el naturalista Linneo en la Amazonía peruana. Su nombre deriva de dos palabras quechuas: 'sacha' que significa silvestre, e 'inchi', cuyo término hace referencia al maní que produce. También es conocida como sacha yuchi, sacha yuchiqui, sacha inchik, maní del monte, maní silvestre, maní del inca, entre otras (1). Su nombre de maní de los incas o, en inglés, inca peanut, responde a las evidencias que muestran que fue cultivada por los incas, hace más de 3000 años (2).

El género *Plukenetia* pertenece a la familia Euforbiáceas y está integrado por 19 especies. Tiene una distribución pantropical, hallándose 12 especies en sudamérica y centro-américa y las restantes en el viejo mundo, pudiendo existir otras especies actualmente no conocidas (3). En América, su presencia se da principalmente en Perú, Bolivia, Antillas Menores, Surinam, Venezuela, Colombia,

Ecuador y Brasil, sitios que cumplen sus exigencias óptimas de crecimiento, que incluyen una altitud entre 30 y 2000 m.s.n.m., clima tropical o sub-tropical, con temperaturas de 10 a 26°C y una humedad relativa del 78% (1).

De su semilla se extrae un aceite rico en antioxidantes y ácidos grasos poliinsaturados con elevado potencial agro tecnológico y aplicaciones en las industrias alimentarias humanas y animales, así como cosméticas (1,2-5).

Tomando en consideración su composición en ácidos grasos y la evidencia existente, es esperable que la mayor efectividad clínica de Sacha Inchi se asocie con su capacidad para mejorar los perfiles lipídicos y disminuir el riesgo cardiovascular, aunque hay experiencias que sugieren que podría también ser efectivo en tratamientos preventivos y curativos de enfermedades de la piel (6), lo que demuestra la amplia variedad de aplicaciones posibles.

No obstante el desarrollo investigativo sobre la composición química de sus aceites y tortas (7-10), el rendimiento de distintos genotipos y fenotipos (10,11), la mejora en la eficiencia de sus cultivos (4,13-15) y sus capacidades en términos de alternativas de negocio (16) o desarrollo industrial (17), son menos abundantes los estudios que profundizan en aspectos relacionados con el impacto metabólico del consumo dietario de estos productos. El propósito de este artículo es hacer una revisión de la literatura publicada en los últimos 15 años sobre la composición y el consumo dietario de la semilla de Sacha Inchi o de su aceite, a efectos de reflexionar sobre las ventajas de su ingesta.

METODOLOGÍA

Se revisaron las bases de datos Elsevier Scopus, EBSCO y Journal Science Direct y se buscaron artículos publicados en el periodo 2000-2015 utilizando como palabras clave Sacha Inchi, Plukenetia volubilis L., maní del Inca e inca peanut en título, resumen y palabras claves, en revistas arbitradas.

Los ácidos grasos y la salud cardiovascular

El auge del impacto positivo en la salud cardiovascular derivado de la adopción de dietas como la mediterránea, fue puesto en evidencia por los resultados de estudios multicéntricos extensos como el de PREvención con Dieta MEDiterránea (PREDIMED). En promedio, este tipo de dieta provee entre 33 y 42 % de la ingesta calórica total de los individuos en forma de lípidos, 15% en forma de proteínas y el resto en forma de carbohidratos, lo que la convierte en una dieta relativamente rica en grasa de origen vegetal (18) y otorga un importante papel a los lípidos, implicándolos en los beneficios hallados.

La evidencia actual indica que sus ventajas estarían asociadas con un óptimo balance entre los diferentes alimentos y componentes dietéticos (19) y muy relacionado con el contenido de aceite de oliva (20,21) a lo que se suma su capacidad para evitar la peroxidación de lípidos y de lipo-proteínas dado su contenido en tocoferoles, tocotrienoles, β -caroteno y diferentes compuestos fenólicos con potente acción antioxidante (19).

Desde una perspectiva química, los ácidos grasos pueden clasificarse en saturados e insaturados. Estos últimos, se reconocen con la letra omega (ω) seguida por el número correspondiente a la posición del carbono que lleva la insaturación, comenzando a numerar desde el grupo metilo terminal. Entre los ácidos grasos insaturados tenemos los ácidos grasos ω -9 como el ácido oleico (18:1; AO) presente en el aceite de oliva, ácidos grasos ω -6 como el linoleico (18:2; LA) presente en los aceites vegetales y los ω -3 entre los que se encuentra el ácido alfa linolénico (18:3; ALA), que se halla presente en cantidades importantes en algunas especies vegetales como el Sacha Inchi.

El aceite de pescado, rico en ácidos grasos insaturados ω -3, representados fundamentalmente por el ácido eicosa-pentaenoico (20:5; EPA) y el docosahexaenoico (22:6; DHA) (22), ha mostrado mejorar los perfiles lipídicos, sin embargo la aceptación cultural de su sabor ha dificultado su incorporación a la dieta (23), lo que justifica la necesidad de hallar nuevas fuentes con mejor palatabilidad pero igualmente saludables.

En humanos, las vías metabólicas endógenas para convertir ALA en EPA y EPA en DHA son limitadas (entre 0,2% a 8 % de ALA es convertido en EPA y entre 0% y 4 % de ALA a DHA), pero existen estudios que sugieren que ALA podría tener acciones cardiovasculares benéficas, aunque todavía sin resultados concluyentes (24), por lo que se deben continuar estudios del impacto del consumo de fuentes vegetales, ricas en este tipo de ácidos grasos, y evaluar su consideración como sustituto o suplemento en aquellas poblaciones que no consumen los provenientes de fuentes marinas.

Composición de Sacha inchi

La semilla de Sacha inchi, presenta alrededor de 48-50% de aceite y 27-28% de proteínas altamente digeribles y ricas en aminoácidos esenciales, excepto leucina y lisina (2). El aceite obtenido de su semilla está compuesto, en su mayor parte por ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) que incluyen 42-48% de ALA y 32-37% de LA, con 12 % de monoinsaturados (MUFA). Aun cuando se establecieron diferencias al comparar la composición química de las semillas de diferentes especies, en todas ellas fue apreciable un importante contenido de ALA y una baja relación ω -6/ ω -3, así como cantidades considerables de tocoferoles, fitosteroles y compuestos fenólicos, responsables del elevado poder antioxidante de sus

derivados (25). Semillas de Sacha Inchi cultivada en Colombia, mostraron un elevado contenido de aceite (41,4%) y proteínas (24,7%), mientras que su aceite, compuesto principalmente de lípidos neutros, estuvo constituido en 50,8% por ácidos grasos ω -3 y 33,4% de ω -6, similar a lo hallado en otros países (7).

Al comparar una muestra de aceite obtenida de Sacha inchi cultivado en el Municipio de Ibagué, Colombia, con aceite de oliva virgen, reconocida como un referente saludable para consumo, se encontró que los aceites de Sacha presentaron mayor índice de yodo y menores índices de acidez y de peróxidos, independientemente del método de extracción aplicado (soxhlet o reactor de flujo forzado) lo cual resulta ser una deseable combinación de elevados porcentaje de insaturaciones con adecuados indicadores de estabilidad (26), características congruentes con lo hallado en un aceite de Sacha comercial de Perú (27). En aceite obtenido de semillas de Sacha Inchi de origen peruano, Follegatti y cols. hallaron tocoferoles (gamma y delta) en una concentración de 2,39 g/Kg, que aportan a conferir resistencia ante procesos de oxidación (28).

Seguridad y ventajas del consumo de Sacha Inchi

A pesar del notable incremento en el número y diversidad de publicaciones con resultados de investigaciones sobre el cultivo de las plantas de Sacha Inchi y la caracterización de sus partes y derivados, no es igualmente abundante las investigaciones orientadas a evaluar cambios metabólicos derivados de su consumo. Sin embargo, aunque menos numerosas, las evidencias actuales muestran un camino prometedor y permiten estimar en las semillas y en los derivados de Sacha Inchi un interesante potencial agroindustrial.

La mayor cantidad de estudios se han desarrollado en Perú, en modelos animales y en humanos, y han permitido demostrar que su consumo es seguro y confiable, lo que también se deduce del hecho de ser un alimento de consumo ancestral. De hecho, numerosas tribus indígenas americanas lo utilizaban para recuperar fuerzas o aprovechaban el uso de su aceite y harina, a manera de ungüento para dolores musculares y con acciones cosméticas (6,29).

Entre los estudios en modelos animales, se destaca una investigación realizada en ratones de la cepa Nish, sometidos a una dieta balanceada y dosis crecientes de aceite de Sacha Inchi, en la cual reportaron una dosis letal DL50 de 111,65 mL/kg de peso (30). La mortalidad, en dosis mayor a 64 mL/ kg peso, fue dosis dependiente y se relacionó con disminución de peso y diarrea.

En ratas macho Holtzman, por su parte, utilizando dosis repetidas por 60 días, se mostró que la ingesta de aceite de Sacha Inchi es inocua en esas condiciones, con una DL50 mayor a 37 g/kg de peso corporal, lo cual muestra la seguridad de su consumo en esta especie (31).

Otro estudio en ratas albinas Holtzman, tratadas durante 15 días con una dieta conteniendo 15 % de grasas saturadas, produjo un aumento de colesterol en 5,6%, de triglicéridos en 45%, de VLDL y LDL en 45 y 21%, respectivamente, y disminución de HDL en 25%. A continuación se dividieron en un grupo control negativo que recibió solución fisiológica, un grupo control positivo con lovastatina (20 mg) y un grupo intervenido con Sacha Inchi a diferentes dosis. Para los niveles de triglicéridos, los resultados mostraron un descenso del 40,5 % en el grupo que recibió una dosis de 1 mg/Kg de peso de Sacha Inchi, y 23 % en el grupo que recibió lovastatina mientras que en el grupo control negativo se observó un incremento del 1 %. No obstante, se vio incremento de triglicéridos en los animales intervenidos con dosis de Sacha de 0,5 y 2 mg/ Kg de peso. Para colesterol de LDL, Sacha inchi mostró ser eficaz a la dosis de 0,5 y 2 ml/Kg disminuyendo este indicador en 19% y 7%, respectivamente, con efecto superior al de la lovastatina (6%). Se observó un incremento de 7,6 y 10 % en los niveles de colesterol total a las dosis de 0,5 y 1 mg/Kg, siendo inferior al aumento en el grupo tratado con lovastatina (14%). Estos resultados muestran acciones del aceite de Sacha comparables y en ocasiones superiores al tratamiento con lovastatina, y parecen indicar que los efectos sobre la lipemia podrían depender de las dosis, las cuales debieran ser ajustadas convenientemente a fin de optimizar su actividad (30).

En un estudio llevado a cabo en *Rattus rattus* var albinus alimentadas al inicio con una dieta rica en grasas, se suministró aceite de Sacha inchi, gemfibrozilo o solución fisiológica a fin de comparar el efecto hipolipemiante de los tratamientos. Los resultados mostraron una disminución de los niveles de triglicéridos séricos a la primera y segunda semana de tratamiento, en porcentajes de 35,42 % y 45,57 % respectivamente para Sacha Inchi; 34,81 % y 44,83 % respectivamente para gemfibrozilo y 30,03 % y 27,24 % respectivamente para solución fisiológica, lo que demuestra una eficacia similar del aceite con respecto al medicamento ensayado (32).

Estudios en personas con hipertrigliceridemia han demostrado que los ácidos grasos ω -3, cuando son consumidos por 12 semanas en concentraciones de 2, 3, y 4 g/día, inducen reducciones de 25,9%; 25,5% y 30,9%, respectivamente, lo que resulta estadísticamente significativo cuando se compara con la disminución de 4,3 % obtenida con aceite de oliva, siendo efectivo también para la reducción de colesterol no HDL y LDL, mostrando los beneficios de incorporar este tipo de ácidos grasos en el tratamiento de estos desórdenes (33).

De acuerdo con las evidencias disponibles, resulta pertinente enfocar los esfuerzos en el estudio de aceites vegetales ricos en ácidos grasos ω -3, como el caso de Sacha Inchi, tomando en consideración posibles ventajas derivadas de la mejor aceptabilidad del producto, en comparación con los aceites de pescado, y la

posibilidad de poder aplicarlo como una alternativa terapéutica dado el menor riesgo de efectos secundarios o interacciones medicamentosas.

En personas aparentemente sanas, el consumo de 10 o 15 mL de aceite de Sacha Inchi en las mañanas, durante un periodo de 16 semanas, mostró buena aceptabilidad así como ausencia de efectos secundarios clínicos. Muy escasamente se reportó aumento de la frecuencia de las deposiciones, a diferencia de la presencia de diarrea que había sido un efecto hallado en estudios con animales. Lo anterior permitió concluir que el consumo de 10-15 mL de aceite de Sacha Inchi resultaba seguro y aceptable para ser recomendado para consumo humano. En ese mismo estudio se observó una disminución en las cifras de colesterol total y LDL, así como un aumento significativo en el colesterol HDL, sin modificación en los niveles de triglicéridos ni glucosa, aunque con incremento de insulina e índice HOMA, los cuales sin embargo no alcanzaron niveles de insulinoresistencia (34).

En estudios realizados con adultos jóvenes pudo observarse que la adición de 50 g de maní de Sacha Inchi previene el aumento postprandial de triglicéridos producido por la ingesta de una carga de 82 g de aceite de oliva (35). Sumado a lo anterior, la ingesta de 30 g de semillas de Sacha Inchi diarios, durante 6 semanas, mostró una notable mejoría de los perfiles lipídicos en el grupo intervenido, comparado con un grupo similar que no consumió Sacha, con disminución en los niveles de colesterol total de 14,02 %, LDL 20,48 % y de triglicéridos 36,37 %, respecto a los valores iniciales con diferencia significativa respecto a los cambios hallados en el grupo control, que mostró aumentos del 8,15%; 5,82% y 6,41%, respectivamente. En el grupo intervenido con Sacha se obtuvo un aumento de 18,97% en HDL, contra un aumento del 13,1% en el grupo control (36).

El consumo diario durante 4 meses de 5 o 10 mL de aceite de Sacha Inchi, conteniendo 2 g de ácidos grasos ω -3 por cada 5 mL, en pacientes con hipercolesterolemia mostró, para la ingesta de 5 mL, disminución en los niveles de colesterol total, LDL, VLDL, no-HDL, ácidos grasos no esterificados (AGNE) y triglicéridos, aumento significativo de HDL y ausencia de cambios en los niveles de glucosa e insulina; la dosis de 10 mL mantuvo la disminución en el colesterol total, LDL, no-HDL y AGNE, no mostró disminución de triglicéridos y provocó un ligero incremento de la glucosa e insulina al final del estudio. Lo anterior parece indicar la existencia de una dosis máxima, más allá de la cual la ingesta del aceite no incidiría favorablemente en los marcadores lipídicos de riesgo cardiovascular y, para el caso de la insulina, podría verificarse un efecto de saturación en sus receptores. En ningún caso se observaron efectos secundarios ni rechazo a su ingesta, lo que muestra la inocuidad de su consumo y su aceptabilidad (37).

CONCLUSIONES

El consumo del maní de Sacha Inchi o sus derivados, caracterizados por su elevado contenido de ácidos grasos poliinsaturados ω -3 y ω -6, se ha relacionado con la mejoría del perfil bioquímico relacionado con riesgo cardiovascular, lo que permite suponer beneficios a mediano y largo plazo, en acciones preventivas de distintos niveles.

Su acción, en términos de mejoramiento de los perfiles lipídicos tanto en ayunas como posprandiales, podría resultar una oportunidad sin precedentes de hacer frente, con un producto natural, a los índices de morbimortalidad por estas causas, especialmente tomando en consideración el fracaso de estrategias basadas en la disminución de la ingesta grasa, y en los intentos infructuosos para aumentar las concentraciones de lipoproteínas de alta densidad, que ha sido uno de los hallazgos en las intervenciones con Sacha Inchi.

Sumado a ello, de confirmarse la presencia de actividad biológica comparable a opciones farmacológicas, y una vez ajustadas las dosis que optimicen su actividad, el consumo del aceite o el maní de Sacha podría constituirse en una alternativa natural que evitaría los riesgos de interacciones medicamentosas o efectos secundarios de dichos medicamentos.

Su consumo ancestral, sumado a los resultados de las investigaciones en modelos animales y en humanos, ha demostrado la inocuidad y ha permitido evidenciar que su sabor no es un problema al momento de considerar su inclusión como aceite de mesa, en forma de complemento alimenticio, o como alternativa terapéutica. La presencia de compuestos antioxidantes podrían contribuir con efectos protectores del daño oxidativo celular, al tiempo que otorgan al producto características fisicoquímicas que aseguran su estabilidad y le confieren un elevado potencial agroindustrial.

Es importante continuar los estudios que permitan revalorizar esta fuente vegetal de ácidos grasos, desde una doble dimensión, lo que corresponde al ámbito de la salud cardiovascular de los consumidores, y desde una mirada agroindustrial de país que incluye a todos los estamentos involucrados en su cultivo, industrialización y comercialización, viéndola además como una oportunidad de cultivo alternativo y una opción válida para el desarrollo de nuestras comunidades campesinas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arfini F, Antonioli F. Sacha inchi. Research about the conditions for recognition of geographical indications in Peru, CRED, Lima Peru, 2013.
2. Flores D, Lock O. Reassessing the ancient use of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L) for nutrition, health and cosmetics. *Rev Fitoterapia* 2013; 13(1): 23-30.
3. Dostert N, Grischa JR, Cano A, La Torre MI, Weigend M. Factsheet: Botanic information of Sacha inchi *Plukenetia volubilis* L. Lima Perú, 2009.
4. Viegas PH, Bordignon SR, Bovi G. Horticultural performance of in vitro propagated plants of Sacha inchi. *Ciência Rural*, Santa Maria 2014; 44(6):1050-1053.
5. Lucas JL, Icochea E, Valdivia R, Carcelén F, Guzmán J. Effect of Sacha inchi oil (*Plukenetia volubilis*) in the diet of broiler Breeders on the productive performance of their progeny. *Rev Inv Vet Perú* 2011; 22 (4):283-9.
6. Gonzalez G, Belkhelfa H, Haddioui L, Bourdy G, Deharo E. Sacha Inchi Oil (*Plukenetia volubilis* L.), effect on adherence of *Staphylococcus aureus* to human skin explant and keratinocytes in vitro. *J Ethnopharmacol* 2015; 171:330–4.
7. Gutiérrez LF, Rosada LM, Jiménez A. Chemical composition of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction, *Grasas y Aceites* 2011; 62(1):76-83.
8. Niu L, Li J, Chen MS, Xu ZF. Determination of oil contents in Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) seeds at different developmental stages by two methods: Soxhlet extraction and time-domain nuclear magnetic resonance. *Industrial Crops Products* 2014; 56:187–90.
9. Pereira AH, Gohara AK, Rodrigues AC, Souza NE, Visentaine JV, Matsushita M. Sacha inchi as potential source of essential fatty acids and tocopherols: multivariate study of nut and shell, *Acta Scientiarum. Technol Maringá* 2013; 35(4):757-63.
10. Betancourth CF. Use of the Sacha inchi residual cake (*Plukenetia volubilis* L.) by solvent extraction of its oil. Master's of Sustainable Development and Environment. University of Manizales. Colombia, 2013.
11. Wang X, Xu R, Ruling Wang R, Liu A. Transcriptome analysis of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds at two developmental stages, *BMC Genomics* 2012; 13:716.
12. Wang X, Liu A. Expression of genes controlling unsaturated fatty acids biosynthesis and oil deposition in developing seeds of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), *Lipids* 2014; 49:1019–31.
13. Cai ZQ. Shade delayed flowering and decreased photosynthesis, growth and yield of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*) plants. *Industrial Crops Products* 2011; 34:1235-37.
14. La Rosa R, Quijada J. Germination of Sacha inchi, *Plukenetia volubilis* L. (Mcbride, 1951) (Malpighiales, Euphorbiaceae) under four different conditions. *Biologist (Lima)* 2013; 11(1): 9-14.

15. Ruiz H, Mesén F. Effect of 4 doses of Indole butyric acid and types of cutting on the rooting of sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Agronomía Costarricense* 2010; 34(2): 259-67.
16. Chirinos O, Adachi L, Calderón F, Díaz R, Larrea L, Mucha G, Roque L. Sachá inchi oil exports to U.S. market. Lima: ESAN University, 2009.
17. Kumar B, Smita K, Cumbal L, Debut A. Sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil for one pot synthesis of silver-nanocatalyst: An ecofriendly approach *Industrial, Crops Products* 2014; 58:238–43.
18. Márquez F, Bulló M, Vizmanos B, Casas P, Salas J. A pattern of healthy feeding: the traditional Mediterranean diet, *Antropo*. 2008; 16:11-22.
19. Carbajal A, Ortega R. Mediterranean diets as an example of a prudent and healthy diet. *Rev Chil Nutr*. 2001; 28(2):224-36.
20. Guasch M, Hu FB, Martínez MA, Fitó M, Bulló M, Estruch R, Ros E, et al. Olive oil intake and risk of cardiovascular disease and mortality in the PREDIMED Study, *BMC Med*. 2014; 12:78.
21. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, Gómez-Gracia E et al. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet. *New England J Med* 2013; 368(14):1279-90.
22. Nasiff A, Meriño E. Omega-3 fatty acid: blue fish meat and fish oil concentrates. The good and the bad. *Rev Cubana Med*. 2003; 42(2): 49-55.
23. Yaxley A, Miller M, Fraser RJ, Cobiac L, Crotty M. Testing the acceptability of liquid fish oil in older adults, *Asia Pac J Clin Nutr* 2011; 20 (2): 175–179.
24. Mozaffarian D, Wu JHY. Omega-3 Fatty Acids and Cardiovascular Disease Effects on Risk Factors, Molecular Pathways, and Clinical Events, *JACC* 2011; 58(20):2047–67.
25. Chirinos R, Zuloeta G, Pedreschi R, Mignolet E, Larondelle Y, Campos D. Sachá inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids, tocopherols, phyto-sterols, phenolic compounds and antioxidant capacity, *Food Chem* 2013; 141:1732–9.
26. Castaño DL, Valencia MP, Murillo E, Mendez JJ, Joli JE. Fatty acid composition of Inca peanut (*Plukenetia volubilis* Linneo) and its relationship with vegetal bioactivity. *Rev Chil Nutr*. 2012; 39(1):45-52.
27. Vicente J, de Carvalho MG, Garcia-Rojas EE, Fatty acids profile of Sachá inchi oil and blends by ¹H NMR and GC-FID, *Food Chem*. 2015;181: 215–21.
28. Follegatti LA, Piantino CR, Grimaldi R, Cabral FA. Supercritical CO₂ extraction of omega-3 rich oil from Sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds, *J. Supercritical Fluids* 2009; 49:323–9.
29. Mosquera T, Noriega P, Tapia W, Pérez SH. Effectiveness evaluation of cosmetic creams elaborated from oils extracted from Amazon plants: *Mauritia flexuosa* (morete), *Plukenetia volubilis* (sachá inchi) and *Oenocarpus bataua* (ungurahua). *Rev Ciencias Vida* 2012; 16(2):14-22.
30. Cordova M, Cotillo J, Cruz S, Espinoza D, Felix L, Fernández D, et al. Evaluation of acute toxicity and hypolipemic action of *Plukenetia volubilis*, Sachá inchi. *Rev Horizonte Méd* 2006; 6(1):45-52.

31. Gorriti A, Arroyo J, Quispe F, Cisneros B, Condorhuama M, Almora Y, Chumpitaz V. Oral toxicity at 60-days of Sacha inchi oil (*Plukenetia volubilis* L.) and linseed (*Linum usita-tissimum* L.), and determination of lethal dose 50 in rodents. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 2010; 27(3): 352-60.
32. Vicuña A, Izquierdo EJ, Huamán JJ. Gemfibrozil versus Sa-cha Inchi oil in reducing serum triglyceride levels in *Rattus rattus* var *albinus*. *Acta Méd Peruana* 2012; 29 (2):85-8.
33. Kastelein JJ, Maki KC, Susekov A, Ezhov M, Nordestgaard BG, et al. Omega-3 free fatty acids for the treatment of severe hypertriglyceridemia: The EpanoVa fOr Lowering Very high triglyceridEs (EVOLVE) trial. *J Clin Lipidol*. 2014; 8: 94-106.
34. Gonzales GF, Gonzales C. A randomized, double-blind placebo-controlled study on acceptability, safety and ef-ficacy of oral administration of sacha inchi oil (*Plukenetia volubilis* L.) in adult human subjects, *Food Chem Toxicol*. 2014; 65:168–76.
35. Huamán J, Chávez K, Castañeda E, Carranza S, Chávez T, et al. Effect of *Plukenetia volubilis* Linneo (Sacha inchi) on postprandial triglycerides. *An Fac Med*. 2008; 69(4): 263-6.
36. Huamán JJ, Fogel BE; Escobar, PI, Castillo KY. (2012). Ef-fects of the ingestión of *Plukenetia volubilis* Linneo (a.k.a.‘Sacha inchi’) on the lipid profile of young adults. *Acta Méd Peruana* 2012; 29(3):155-60.
37. Garmendia F, Pando R, Ronceros G. Effect of Sacha inchi oil (*Plukenetia volubilis* l) on the lipid profile of patients with hyperlipoproteinemia. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 2011; 28(4):628-32.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Evaluar los efectos de la complementación con aceite de Sacha Inchi sobre la respuesta metabólica e inflamatoria postprandial de un desayuno rico en grasas, en adultos con baja actividad física, y su relación con la presencia de estados metabólicos alterados.

2.2 Objetivos Específicos

- Estudiar los efectos del consumo de un desayuno rico en grasas sobre marcadores de inflamación y del metabolismo de glúcidos y lípidos, y establecer su relación con el estado metabólico.
 - Artículo derivado: **Impacto metabólico e inflamatorio postprandial de una comida rica en grasas y su relación con la presencia de obesidad abdominal. Biomédica (2018) 38:2/ publicación anticipada disponible en:** <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/issue/view/157>
- Estudiar los efectos de la complementación con aceite de Sacha Inchi de un desayuno rico en grasas, sobre el metabolismo de los glúcidos y la expresión de SIRT-1 en PBMC, y establecer su relación con el estado metabólico.
 - Artículo derivado: **“Carbohydrate metabolism and gene expression of sirtuin 1 in healthy subjects after Sacha inchi oil supplementation: A randomized trial.”** (Publicado en Food & Function, 2018. DOI: 10.1039/C7FO01956D).
- Estudiar los efectos de la complementación con aceite de Sacha Inchi de un desayuno rico en grasas sobre el perfil lipídico e inflamatorio, y establecer su relación con el estado metabólico.
 - Artículo derivado: **The effects of adding of Sacha inchi oil on postprandial inflammation and lipid profile are related with metabolic status. Randomized Clinical Trial** (en proceso de publicación)

3. MÉTODOS

3.1 Tipo de estudio

Se realizó un ensayo clínico cruzado aleatorizado doble enmascarado, durante el cual los participantes consumieron, en dos momentos diferentes, separados por un periodo de 15 días, un desayuno rico en grasas solo (HFM) o complementado con aceite de Sacha inchi (HFM+S). El orden de los desayunos fue asignado de manera aleatoria, y una vez finalizado el estudio todos los participantes habían ingerido ambos alimentos, por lo que cada sujeto se constituyó en su propio control. El doble enmascaramiento incluyó al sujeto de investigación y al personal de laboratorio encargado del procesamiento de las muestras.

3.2 Población y muestra

Población

De acuerdo con los listados de personal suministrados por la oficina de Talento Humano de la Universidad de San Buenaventura en Cartagena, la población estuvo constituida por un total de 248 empleados administrativos, con contratos de tiempo completo o medio tiempo, vigentes al momento del estudio.

Muestra

Para calcular el tamaño de muestra, se aplicó la fórmula estadística sugerida por Marrugat (1998) la cual estima el número mínimo de sujetos necesarios para asegurar la representatividad de la muestra en los casos de comparación de dos medidas repetidas en 2 grupos [121].

$$n_a = n_b = 2 * (Z_a + Z_b)^2 * (1 - \rho) * \sigma^2 / (M_{de} - M_{dc})^2$$

Se utilizó la concentración de TAG como estimador postprandial, con una diferencia mínima de 48 mg/dL, un desvío estándar (SD) de 78,6 mg/dL, un coeficiente de correlación entre medidas pre y post de 0,6 y un poder de 80%, valores tomados de experiencias previas [122].

$$Z_a = 1,64$$

$$Z_b = 1,28$$

Poder: 80%

$$M_{de} - M_{dc} = \text{diferencia mínima esperada} = 48 \text{ mg/dL};$$

σ = Desviación estándar de la variable principal = 78,6 [123,124]. Coeficiente de correlación de 0,6 [121].

El número para ambos grupos fue de 18 sujetos de sexo masculino, esto último con el objetivo de controlar posibles efectos hormonales. Para asegurar el cumplimiento en el número de participantes se previó un 15 % de deserción o dificultades técnicas con el sangrado, y para lograr la inclusión de individuos con distintos estados metabólicos, se decidió convocar 21 hombres con obesidad abdominal y 21 sin esta condición, tomando como valor límite 92 cm, de acuerdo con lo recomendado por Gallo, 2013 [125]. Los criterios de inclusión y exclusión fueron verificados en dos etapas, mediante la aplicación de instrumentos elaborados para tal fin (**Anexos 1 y 2**).

El tamaño muestral resultante mostró similitud con los reportados en literatura en estudios similares [117-119], y responde adecuadamente a las recomendaciones de la FDA (2012) mencionado por Gonzales, 2014 (15), que indica que es adecuado un n de 20-80 participantes en estudio de este tipo.

Criterios de Inclusión

Sexo masculino, edad comprendida entre 27 y 59 años, baja actividad física (menos de 150 minutos semanales de actividad física aeróbica moderada o 75 minutos de actividad física aeróbica vigorosa cada semana o bien una combinación equivalente de actividades moderadas y vigorosas).

Criterios de Exclusión.

Diagnóstico de una o varias de las siguientes patologías: dislipidemia, síndrome de malabsorción, diabetes, insuficiencia renal, insuficiencia hepática, cirrosis, hipertensión arterial, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, gastritis crónica, úlcera gástrica, reflujo gastroesofágico, pancreatitis, síndrome de intestino irritable, diverticulitis, colecistitis, cálculos en la vesícula. Contraindicación para el consumo de grasas, que sea fumador, que tenga un consumo de riesgo de alcohol, que esté ingiriendo hipolipemiantes, vitaminas, complementos alimenticios o medicamentos que afecten el metabolismo de lípidos, glúcidos o inflamación.

Aspectos éticos

La investigación se llevó a cabo de acuerdo con la recomendaciones para investigación científica en humanos, Declaración de Helsinki y en cumplimiento de la Resolución 008430/1993, donde estima este tipo de estudio como de riesgo mínimo en cuanto se trata de una intervención con alimentos aprobados para

consumo humano y la toma de muestras de sangre venosa por personal entrenado y en volúmenes aceptables en adultos.

El protocolo fue sometido a evaluación y fue aprobado por los Comités de Bioética de las Universidades de San Buenaventura en Cartagena e ICESI en Cali (**Anexos 3 y 4**).

En todos los casos, los participantes fueron informados adecuadamente del alcance, riesgos y beneficios del estudio, manifestaron libremente la aceptación para participar y firmaron la cláusula de consentimiento informado.

El protocolo fue registrado en clinicaltrials.gov (NCT02886169, **Anexo 5**), y se cursó y aprobó el curso virtual de Protección de los participantes humanos de la investigación (**Anexo 6**).

3.3 Etapas del estudio

3.3.1 Captación

Del total de 248 posibles participantes, y luego de la aplicación del formato de entrevista preliminar (Anexo 3), 143 individuos cumplieron los criterios de inclusión preliminares: sexo masculino, edad entre 27 y 59 años, considerado como adultez de acuerdo con la categorización del Ministerio de Salud en Colombia, no fumadores y con escasa actividad física y estado general saludable.

De los 143 individuos se escogieron 42 sujetos por muestreo aleatorio estratificado según perímetro de cintura (≥ 92 cm y < 92 cm), con el propósito de tener dos grupos con características antropométricas diferentes, lo que permitía aproximar a estados metabólicos distintos.

Durante esta etapa se aplicó una segunda entrevista, más exhaustiva, para confirmar criterios de inclusión e identificar la presencia de criterios de exclusión y se les solicitó firma de la cláusula de consentimiento informado (**Anexo 2**).

3.3.2 Intervenciones

Los participantes fueron citados dos veces, con un intervalo de 15 días, en ayunas. En ambas ocasiones se les tomaron nuevamente las medidas antropométricas (peso, talla, y perímetro abdominal), hasta reunir un total de 21 participantes con obesidad abdominal y 21 sin esta condición. El orden de asignación de los desayunos fue al azar, realizado por un auxiliar de investigación y utilizando tabla de números aleatorios.

Se extrajeron 10 mL de sangre en ayunas (previo a la ingesta del desayuno) y 2 muestras más, a la hora y a las 4 horas postprandiales, bajo supervisión directa de la bacterióloga a cargo. Al final de las intervenciones todos habían consumido ambos alimentos, por lo cual cada sujeto sirvió como su propio control.

En los tiempos de espera pudieron beber agua pero no les fue permitido consumir otras bebidas o alimentos ni realizar ejercicio físico.

El flujograma del estudio, acorde con lo recomendado por el consolidado de estándares para reportar ensayos clínicos-CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials), se muestra en la figura 12.

Dado que el análisis posterior de resultados convocó a estratificar de diferentes formas el grupo, en cada capítulo se muestra el diagrama de flujo ajustado a las condiciones particulares.

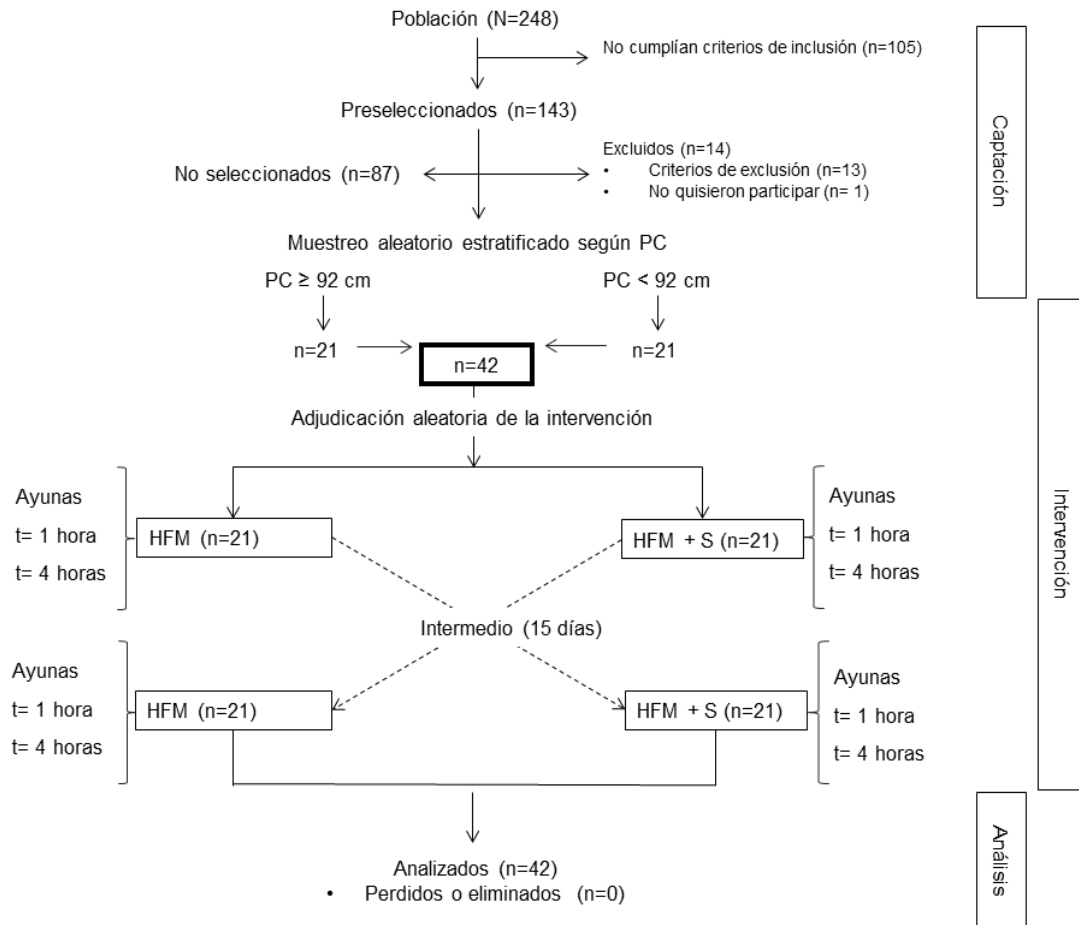


Figura 12. Diagrama mostrando el flujo de participantes a través de cada fase del ensayo.

Desayunos

HFM estuvo constituido por 100 g de pan untado con 70 g de mantequilla y 150 mL de café con 10 g de azúcar [874 cal, 59% de las cuales provenían de grasas (SFA 32%, MUFA 23%, PUFA 4%), 37% de hidratos de carbono y 4% proteínas].

HFM+S incluyó además 15 mL de aceite de Sacha inchi, con un contenido de PUFA del 86%. El desayuno correspondiente al alimento complementado con aceite (HFM+S) contenía un total de 998 cal, 65 % proveniente de grasas (SFA 30%, MUFA 20%, PUFA 15%). Ambos desayunos tuvieron características organolépticas similares a efectos de asegurar que los participantes no supieran su contenido en cada intervención.

La aceptabilidad y contenido del alimento fue ajustado mediante dos pruebas pilotos realizadas con los miembros del grupo de investigación y personal externo al proyecto.

La elaboración del pan se realizó siguiendo un protocolo estandarizado y cumpliendo con las buenas prácticas de manufactura, de tal forma que se pudiera asegurar la inocuidad del alimento y la igualdad de la ingesta de todos los participantes. No se presentaron eventos adversos con ninguno de los dos desayunos.

Seguimiento

Durante el periodo entre las dos intervenciones, a los participantes se les recomendó mantener su dieta habitual, no hacer cambios en sus ingestas, no consumir medicamentos, complementos alimenticios ni vitaminas y conservar su nivel de ejercicio físico. El día anterior a la toma de muestra les fue prohibido ingerir alcohol.

3.3.3 Toma y procesamiento de muestras

Las muestras fueron tomadas por dos bacteriólogas usando jeringas de 10 mL plásticas. La sangre fue distribuida en un tubo con EDTAK₂ (8 mL), un tubo seco libre de pirógenos (2 mL).

Las muestras en ayunas y a la hora se tomaron en venas del mismo brazo, mientras que la de 4 horas postprandial fue extraída del otro brazo para evitar el posible aumento de IL-6 producido por la inflamación local derivada del proceso de extracción, lo que también hizo inadecuado el uso de catéter y limitó el número de muestras.

Los tiempos de extracción a 1 y 4 horas fueron decididos con base en la cinética de metabolización de glúcidos y lípidos [126,127] y tomando en consideración un periodo promedio entre comidas de 4 horas.

Obtención de plasma, suero y células mononucleares de sangre periférica.

Las muestras de plasmas se centrifugaron inmediatamente durante 10 min a 2500 rpm a 4°C en las instalaciones del Instituto de Investigaciones Biomédicas y se conservaron a -20°C en tubos Eppendorf para su posterior análisis. Los sueros se procesaron en idénticas condiciones apenas se logró su coagulación

Las bandas conteniendo glóbulos blancos de las muestras en ayunas y a las 4 horas fueron recolectados con pipetas plásticas estériles durante la primera hora post extracción.

Las células mononucleares se aislaron por el método de gradiente de densidad (Polymorphprep®-Axis Shield) y se conservaron en RNAlater® (Sigma Aldrich) a -70°C hasta su procesamiento.

El Polymorphprep es una solución estéril, lista para usar, libre de endotoxinas que contiene 13.8% (peso/vol) de diatrizoato de sodio (sodium diatrizoate) y 8.0% (peso/vol) de polisacárido, lo que le confiere una densidad de 1.113 ± 0.001 g/ml; osmolalidad de 445 ± 15 mOsm.

Principio del método: Los eritrocitos sedimentan a través del Polymorphprep®.

El procedimiento desarrollado por Bøyum se basa en producir una barrera isoosmótica de densidad (1.077 g/ml) conteniendo los reactivos que separan las células mononucleares sanguíneas, las cuales forman una banda en la interfase, de los polimorfonucleares y eritrocitos que precipitan.

La teoría indica que los polisacáridos agregan a los eritrocitos y causan su sedimentación rápida, permitiendo la formación de un gradiente continuo de densidades en el cual los distintos componentes se ubican como muestra la figura 13 (provista por el fabricante), de manera idéntica a lo obtenido en las condiciones de este estudio, como evidencia la figura 14.

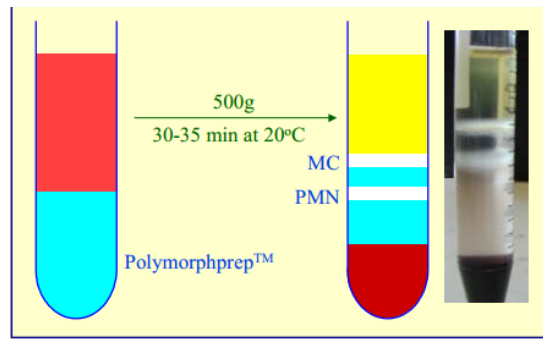


Figure 2: Purification of PMNs using Polymorphprep™
 MC = mononuclear cells; PMNs = polymorphonuclear leukocytes. Inset right shows an actual separation in a 15 ml tube

Figura 13. Esquema y foto del resultado final de la separación de PBMC provista por el fabricante.



Figura 14. Foto resultado final de la separación de PBMC.
 Se pueden observar las dos capas de MC y PMC, ésta última fue recolectada para trabajo posterior. (Fotografía propia).

A efectos de poder utilizar el plasma para las determinaciones bioquímicas el protocolo original fue modificado, recuperando parte de los plasmas y realizando un concentrado de leucocitos de 2,5 mL, el cual se agregó cuidadosamente sobre 2,5 mL de Polymorphprep en un tubo de centrifuga para posterior centrifugación y colecta de los PBMC.

Los PBMC lavados y suspendidos en buffer PBS se conservaron en una solución que estabiliza y protege el RNA (RNA later®) y se mantuvieron a -20°C hasta su procesamiento.

3.3.4 Marcadores en suero del metabolismo de glúcidos

Las cuantificaciones de glucosa, perfil lipídico, insulina, IL-6 y PCRus se llevaron a cabo en plasma y las determinaciones de LPS en suero, en las instalaciones del Laboratorio de Atención a la Comunidad y en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de San Buenaventura en Cartagena.

Glucosa

La glucemia se midió por método enzimático espectrofotométrico usando kit comercial.

Fundamento

La glucosa se determina luego de la oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa. El peróxido de hidrógeno formado reacciona bajo la catálisis de peroxidasa con fenol y 4 –aminofenazona formando un complejo rojo-violeta usando la quinoneimida como indicador que se lee a 500 nm.

Tabla 1 Protocolo para la determinación de glucosa.

Pipetear	Standard o muestra	Control de calidad	Blanco de reactivo
Standard o muestra o suero control	5µL	5µL	--
Reactivo	500µL	500µL	500µL
Mezclar, incubar 10 min a 25 °C y medir absorbancia a 500 nm frente a blanco de reactivo			

Insulina

La insulina se midió por enzimoimmunoensayo en microplacas comerciales (Accubind) mediante un análisis inmunoenzimométrico

Fundamento

La insulina de la muestra se une a los anticuerpos monoclonales marcados con biotina agregados exógenamente y luego este complejo se fija a la superficie de una microplaca a través de la interacción con la estreptavidina que reviste los pozos.

Luego de lavar para eliminar el exceso de anticuerpo se agrega un segundo anticuerpo marcado con la enzima que reconoce el complejo y se une a él. La enzima ligada al complejo es puesta en evidencia mediante el agregado de un sustrato que generó un color que se midió en un lector de microelisa apropiado a una longitud de onda de 450 nm con un filtro de referencia de 620 nm.

Tabla 2 Protocolo para la determinación de insulina.

	Muestra (uL)	Control (uL)
	50	-
	-	50 (de 0 a 300 uUI/mL)
Ac monoclonal biotinilado marcado con enzima	100	100
Mezclar suavemente 30 seg, cubrir e incubar 60 min a temperatura ambiente.		
Descartar contenido y lavar con 350 uL de solución de lavado x 3 veces.		
Sustrato	100	100
No agitar. Dejar 15 min a temperatura ambiente.		
Solución stop	50	50
Leer a 450 nm (use 620-630 como longitud de onda de referencia.		

Mediante el uso de sueros de referencia de concentración conocida, que cubre el

rango de 0 a 300 $\mu\text{IU/ml}$ se generaron curvas de Absorbancia versus concentración, y por interpolación se calcularon las concentraciones de insulina en cada una de las muestras. Todas las muestras, estándares, controles y blancos se realizaron por duplicado. La calidad de los resultados fue controlada mediante la inclusión en todas las corridas de 2 sueros de concentración conocida.

Cálculos de áreas bajo las curvas

El área bajo la curva (AUC) de tres puntos se calculó por el método trapezoidal y el área incremental neta (iAUC) por sustracción de los valores basales a cada valor postprandial [128,129].

Índices de función de célula beta y de respuesta a insulina

Índice HOMA-IR: el índice HOMA-IR (homeostasis assessment model for insulin resistance) se calculó por el método descrito por Mathews, 1995 [130], utilizando la siguiente fórmula:

$\text{HOMA-IR} = \text{insulina } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glucosa (mmol/L)} / 22,5.$

Índice insulinogénico (IGI 1h): estima la función de la célula beta pancreática correspondiente a la primera fase de secreción insulínica. Se calculó mediante la fórmula:

$\text{IGI 1h} = (\text{Ins}_0 - \text{Ins}_1) / (\text{G}_0 - \text{G}_1)$, donde los subíndices 0 y 1 corresponden a ayunas y 1 hora, respectivamente.

Índice insulinogénico postprandial (IGI_{pp}): estima la función de la célula beta pancreática durante todo el tiempo del estudio. Se calculó como:

$\text{IGI}_{pp} = (\text{AUC}_{\text{Ins}} / \text{AUC}_{\text{G}}) [6].$

Índice de sensibilidad a insulina en ayunas (ISI₀): se calculó mediante la fórmula $\text{ISI}_0 = 2 / (\text{Ins}_{0/n} \times \text{G}_{0/n} + 1)$, en el cual los valores de G e Ins se normalizaron dividiendo por sus respectivos valores promedios normales ($\text{G}_n = 4,7 \text{ mmol/L}$ e $\text{Ins}_n = 12,3 \text{ mIU/L}$), por lo que el índice es 1 en condiciones de normalidad.

Índice de sensibilidad insulínica postprandial respecto a HFM (ISI_{pp}): se calculó aplicando la fórmula: $\text{ISI}_{pp} = 2 / (\text{AUC}_{\text{G-HFM+S}} / \text{AUC}_{\text{G-HFM}} \times \text{AUC}_{\text{Ins-HFM+S}} / \text{AUC}_{\text{Ins-HFM}} + 1)$. Las áreas bajo la curva de G e Ins post HFM+S se normalizaron dividiendo por las áreas post HFM, con lo cual el índice es 1 cuando ambos tratamientos tienen igual efecto, mayor que 1 cuando el agregado del aceite de Sacha inchi mejora la sensibilidad respecto a HFM, y menor que 1 en caso contrario [131,132].

3.3.5 Marcadores en suero del metabolismo lipídico

Colesterol total

El colesterol total se midió por método enzimático espectrofotométrico usando kit comercial con factor aclarante de lípidos.

Fundamento

El colesterol se determina luego de un proceso de hidrólisis enzimática y oxidación. El indicador es la quinoneimida formada por el peróxido de hidrógeno y la 4-aminoantipirina, en presencia de fenol y peroxidasa.

Tabla 3 Protocolo para la determinación de colesterol total.

Pipetear	Standard o muestra	Control de calidad	Blanco de reactivo
Standard o muestra o control	5µL	5µL	--
Reactivo	500µL	500µL	500µL
Mezclar, dejar 10 min a 25 °C y leer a 500 nm frente a blanco antes de 60 min.			

HDL-colesterol

La fracción de colesterol en lipoproteínas de alta densidad se midió mediante una prueba directa homogénea por método enzimático espectrofotométrico usando un kit comercial.

Fundamento

La prueba consta de dos pasos sucesivos. En el primero se eliminan los quilomicrones y colesterolos provenientes de VLDL y LDL por reacción enzimática. En el segundo paso se determina el colesterol en presencia de surfactantes, haciéndolo reaccionar con enzimas específicas que lo oxidan a colesteno y peróxido de hidrógeno. Esta última reacciona con un cromógeno y produce un pigmento quinónico que se puede leer espectrofotométricamente.

Tabla 4 Protocolo para la determinación de la fracción HDL-colesterol.

Pipetear	Standard o muestra	Control de calidad	Blanco de reactivo
Standard o muestra o suero control	10µL	10µL	--
Enzima	750µL	750µL	750µL
Mezclar, incubar exactamente 5 min a 37 °C			
Sustrato	250µL	250µL	250µL
Mezclar, incubar a 37 °C y a los 5 minutos medir absorbancia a 500 nm frente a blanco de reactivo.			

Todas las lecturas fueron realizadas en el equipo Humastar 80 y, en todos los casos, la calidad de los resultados fue controlada mediante la inclusión de sueros controles de concentraciones bajas, medias y altas, y respaldados por el programa de control de la calidad del Laboratorio de Atención a la Comunidad de la Universidad de San Buenaventura- Cartagena.

3.3.6 Marcadores de inflamación

Interleucina -6 (IL-6)

Para la cuantificación de IL-6 se utilizó un ensayo de inmunoabsorción unido a enzimas, de elevada sensibilidad, el cual utiliza anticuerpos contra IL-6 y una serie de pasos amplificadores que mejoran la sensibilidad del método.

Fundamento:

El kit provee pozos recubiertos con un anticuerpo contra IL-6, los cuales unen la IL-6 procedente de las muestras.

Un segundo anticuerpo conjugado con biotina se une a la IL-6 capturada por el primer anticuerpo. Luego del lavado, se agrega streptavidina-HRP (peroxidasa de rábano picante) que se une a la biotina del segundo anticuerpo. Posteriormente se agrega un reactivo de amplificación (Bioinyl-tiramida) la cual se une a los pozos y a la streptavidina-HRP unida al anticuerpo pegado a la IL-6. Luego de lavar se agrega nuevamente streptavidina-HRP y finalmente se incuba con una solución

sustrato que desarrolla un color proporcional a la cantidad de IL-6 presente en la muestra. Se detiene la reacción con ácido acético y se realiza la lectura usando una longitud de onda principal de 450 nm y una de referencia a 620 nm.

Tabla 5 Protocolo para la determinación de IL-6.

	Muestra	Control	Blanco
Diluyente (uL)	50	50	100
Muestra (uL)	50	-	-
Control (uL)	-	50	-
Biotin- conjugado	50	50	50
Cubrir e incubar 2 horas a temperatura ambiente agitando continuamente Lavar con buffer de lavado, 6 veces.			
Estreptavidin-HRP	100	100	100
Cubrir e incubar 1 hora a temperatura ambiente, agitando continuamente. Lavar con 350 uL buffer de lavado, 6 veces.			
Solución de amplificación I	100	100	100
Cubrir e incubar 15 minutos a temperatura ambiente, agitando continuamente. Lavar con 350 uL buffer de lavado, 6 veces.			
Solución de amplificación II	100	100	100
Cubrir e incubar 30 minutos a temperatura ambiente, agitando continuamente. Lavar con 350 uL buffer de lavado, 6 veces.			
Sustrato TMB	100	100	100
Cubrir e incubar 10-20 minutos a temperatura ambiente.			
Solución stop	100	100	100
Leer contra blanco a 450 nm			

La amplificación se logra dado que la peroxidasa de rábano picante convierte múltiples moléculas de biotinil-tiramidas en especies altamente reactivas, las cuales se unen covalentemente a cualquier proteína del pozo, de manera proporcional a la cantidad de HRP.

Luego de un proceso de incubación y lavado para remover biotinil-tiramida no unida, se agrega Streptavidin-HRP, la cual se une a los sitios de biotina creados en el paso anterior y multiplica las moléculas de HRP disponibles para la reacción con el sustrato.

Para calcular la concentración se realizó una curva de 7 puntos que incluyó un blanco y concentraciones desde 0,08 hasta 2,5 pg/mL.

El control de calidad de los resultados se realizó mediante la inclusión en todas las corridas de 2 sueros controles de concentración baja y alta. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

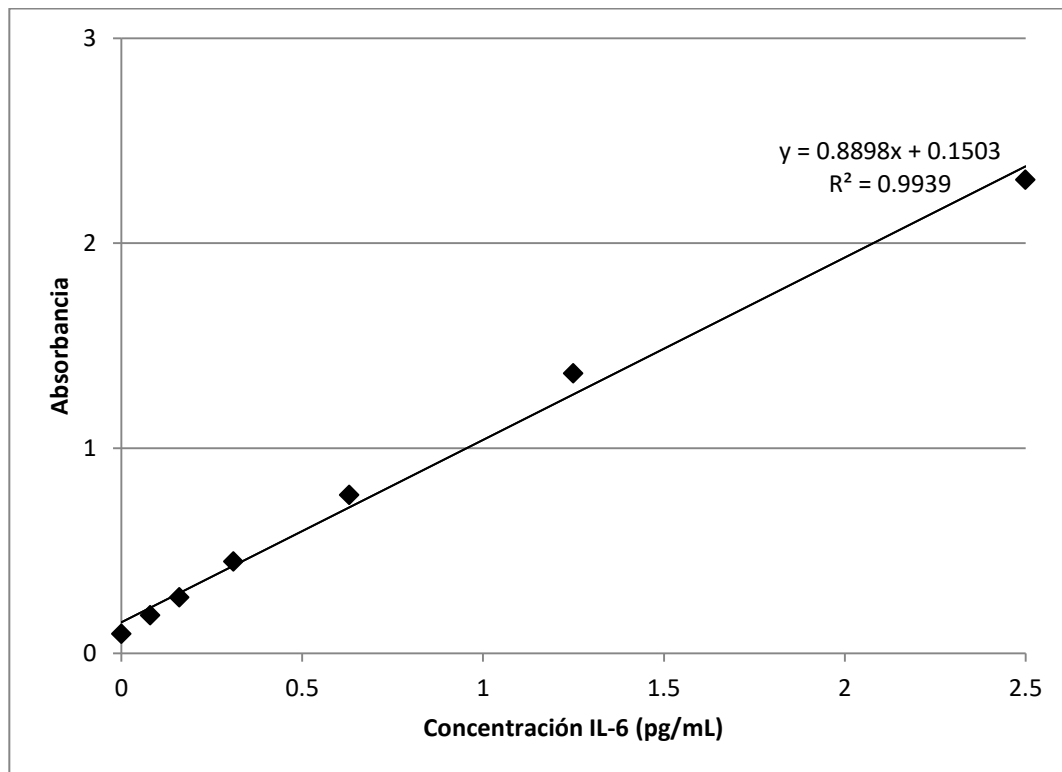


Figura 15. Curva de calibración para IL-6.

Proteína C reactiva de alta sensibilidad (PCRus)

Se utilizó la prueba cuantitativa turbidimétrica PCR-Turbilatex (Spinreact®).

Fundamento:

Las partículas de látex recubiertas con anticuerpos contra PCR humana se aglutinan de acuerdo con la concentración de PCR presente en la muestra, lo que produce un cambio de absorbancia proporcional a dicha concentración a 37°C de

temperatura. La concentración en la muestra se calculó por interpolación en una curva de calibración con concentraciones conocidas de PCR.

Tabla 6 Protocolo para la determinación de PCRs en suero.

Pipetear	Standard/ muestra/control
Diluyente	800µL
Látex	200µL
Standard/ muestra o control	5µL
Mezclar y hacer dos lecturas de absorbancia a tiempos 0 y 2 minutos a 540 nm manteniendo 37°C.	

El control de calidad de los resultados se realizó mediante la inclusión en todas las corridas de un suero de concentración conocida. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

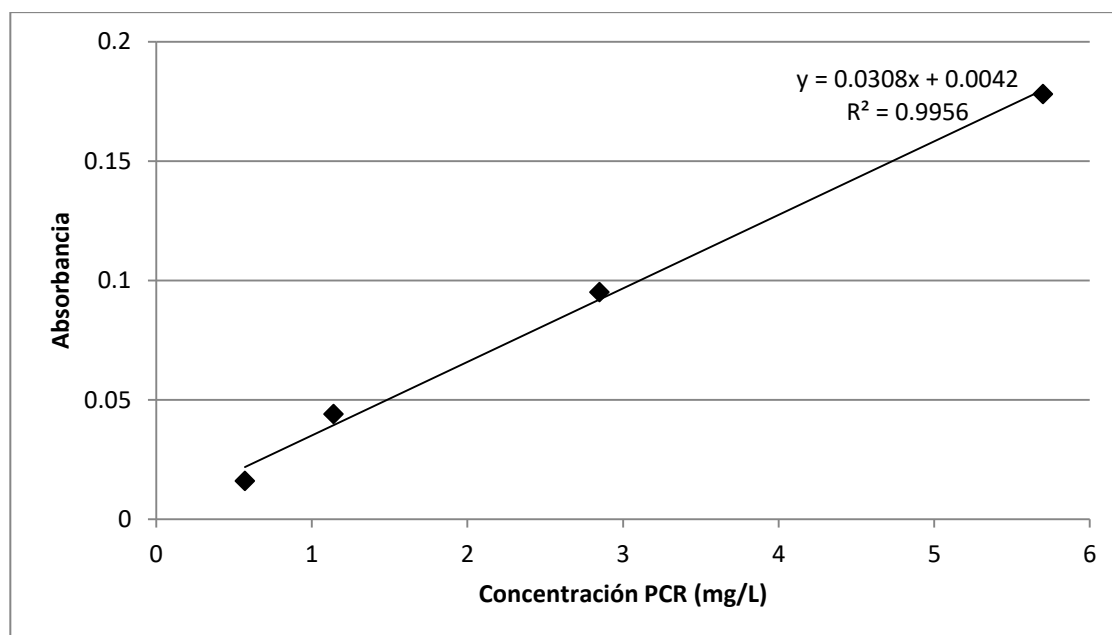


Figura 16. Curva de calibración para PCRs.

Lipopolisacáridos (LPS)

Los LPS fueron cuantificados en suero mediante el kit comercial Limulus Amebocyte Lysate (LAL) QCL-1000™.

Fundamento:

Utiliza una preparación de lisado de amebocitos del *Limulus*, un cangrejo con hemolinfa azul que reacciona con pequeñas cantidades de endotoxinas (LPS), produciendo coagulación por la activación de una cascada de enzimas serino proteasas, con elevada sensibilidad.

El test LAL es un método de punto final que cuantifica endotoxinas provenientes de bacterias Gram Negativas. La muestra se mezcla con el reactivo y se incuba a 37 °C por 10 minutos, se agrega una solución sustrato que reacciona durante 6 minutos más. La reacción se detiene con un reactivo stop (Ácido acético) y la presencia de endotoxina se evidencia por la aparición de un color amarillo que puede ser determinado espectrofotométricamente a 410 nm.

Tabla 7 Protocolo para la determinación de LPS en suero.

	Blanco	Estandar	Muestra
Agua	50	-	-
Estandar	-	50	-
Suero dil 1:20 y calentado 15 min 75oC	-	-	50
Precalentar a 37 °C			
Reactivo LAL	50	50	50
Dejar 10 minutos a 37 °C			
Reactivo sustrato	100	100	100
Dejar 6 minutos a 37 °C			
Ácido Acético 25%	100	50	50

Dado que la absorbancia es proporcional a la cantidad de endotoxina presente, ésta puede ser calculada a partir de una curva estándar con concentraciones de 0.01; 0.05; 0.1; 0.25 y 0.5 EU/mL, según esquema adaptado a las condiciones de las muestras a procesar.

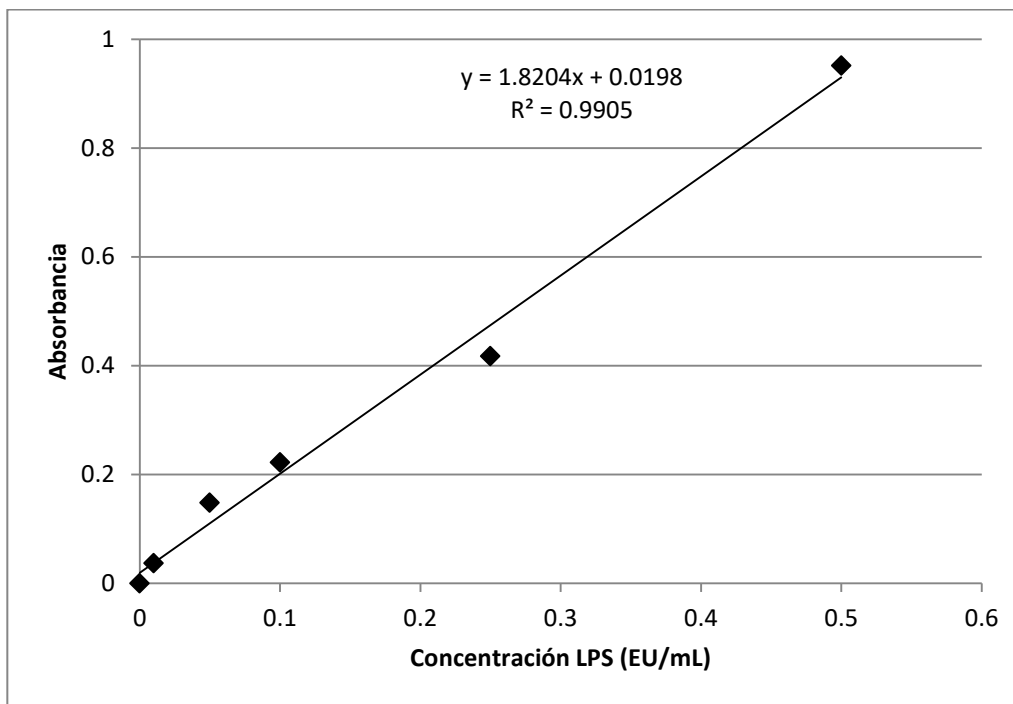


Figura 17. Curva de calibración para LPS.

Todo el material y reactivo utilizado fue certificado libre de pirógenos y las muestras y estándares se corrieron por duplicado.

La recuperación de una adición de 0,4 EU/mL fue de 108 %, cifra que se ubica dentro del rango exigido por la técnica (75-125%).

3.3.7 Análisis de expresión genética

- *Transcripción reversa*

Para la extracción del RNA y su retrotranscripción se utilizaron los kits RNeasy Mini Kit (Qiagen) y Super Script IV Reverse Transcriptase (Thermo Fisher Scientific), con 100 ng/reacción.

Las expresiones de IL-6 y SIRT-1 se midieron en un 7500 Fast (Applied Biosystems) usando GAPDH como gen de referencia. Los primers [133,134] fueron:

Tabla 8 Primers utilizados para las determinaciones moleculares de IL-6 y SIRT-1.

	Forward primer	Reverse primer	Tamaño del amplicón
IL-6	5'GTGGCTGCAGGACATGACAA'	5'TGAGGTGCCCATGCTACATTT3'	101
SIRT-1	5'GCTCGCCTTGCTGTAGACTT3'	5'TGTGACAGAGAGATGGCTGG3'	142
GAPDH	5'TGCACCACCAACTGCTTAGC3'	5'GGCATGGACTGTGGTCATGAG3'	94

Protocolos detallados:

Tabla 9 Preparación del master mix para retrotranscripción (a).

Reactivo	Volumen (uL)/ muestra
5x buffer	4
DTT	1
RNase out	1
Transcriptasa reversa	1

Tabla 10 Protocolo para retrotranscripción

Mx	Conc. ng/uL	RNA ng	Vol uL	H2O	Random hexam + dNTP uL	65°C 5 min y hielo 1 min	Máster Mix (a) uL	10 min a 23 °C 10 min a 50 °C 10 min a 80°C 50 min a 4°C	RNasa H uL	37°C 20 min y 4°C 50 min
XX	XX	100		hasta 11 uL	2		7		1	

- *Amplificación*

Se utilizaron los reactivos Invitrogen Ref 11615-010 y Taq DNA polimerasa 500 U.

Procedimiento:

1. Reconstitución de los primers con agua miliQ, para concentración final 100 pmoles/uL (100 uM)
2. Dilución de los primers 1/10 para tener concentración 10 uM.
3. Preparación del mix.

Tabla 11 Preparación de mix para amplificación.

Reactivo	Cc inicial	Cc final	Vol 1 reacción (uL)	Mix 1 reacción
Agua			12.4	
Buffer	10x	1x	2	
Mg2+	50 mM	2.5 mM	1	
dNTPs	10 mM	0.2 mM	0.4	17 uL
Primer forward	10 mM	0.25 uM	0.5	
Primer reverse	10 mM	0.25 uM	0.5	
Taq Pol	UI		0.2	
cDNA				3
VOL FINAL				20

Tabla 12 Condiciones de amplificación.

Número de ciclos	Objetivo	Tiempo	Temp (oC)
1	Denaturación	3 min	94 °C
40 Amplificación	Denaturación	40 seg	94 °C
	Anillamiento	30 seg	58 °C
	Extensión	45 seg	72 °C
1	Extensión final	2 min	72 °C
1		infinito	4 °C

La calidad de los retrotranscritos se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa 2 %. Para el referente de pesos moleculares se colocaron 2 uL de DNA step Ladder de 25 bp con 5 uL de buffer de carga (**Anexo 7**).

- *PCR en tiempo real*

Se utilizó SYBR Select Master Mix®, conteniendo: SYBR Green ER Dye, Ampli Taq DNA polimerasa ultra pura, UDG (glicosilasa de uracilos lábil al calor), ROX (colorante de referencia), dNTPs (mezcla de nucleótidos) y Buffer.

Tabla 13 Protocolo para PCR en tiempo real.

	Cc inicial	Cc final	Volumen 1 reacción (uL)
Máster mix	2x	1x	7,5
Agua			4.75
Primer forward	10 uM	250 nM (0,25 uM)	0.375

13 uL

Primer reverse	10 uM	250 nM (0,25 uM)	0.375
cDNA			2 uL
VOL TOTAL			15 uL

Tabla 14 Protocolo de amplificación.

Número de ciclos	Objetivo	Tiempo	Temp (oC)
1	UDG activación	2 min	50°C
1	Activación Taq polimerasa	2 min	95°C
40	Denaturación	15 seg	95°C
	Anillado/Extensión	45 seg	60°C

Tabla 15 Protocolo de ciclo de disociación (melting).

Tiempo (seg)	Temperatura °C)
30	95
30	65
30	95
15	60

Los niveles relativos de mRNA de cada muestra se calcularon mediante la determinación del número de ciclos (Ct) que permite superar el umbral establecido (en inglés: threshold) [135]. El DDCt se calculó como la diferencia entre el DCt a las 4 horas post ingesta menos el valor de DCt basal. Las veces de cambio respecto a ayunas se calcularon como 2^{-DDCt} (Anexo 6).

3.4 Análisis estadístico de datos

Los datos se presentan como promedio \pm SD para variables con comportamiento normal y como mediana y rango intercuartílico (IQR) en caso contrario.

Se aplicó el test de Shapiro Wilk para evaluar normalidad y test de Levene para igualdad de varianzas. Para comparaciones entre grupos se usó el test t de Student o la U de Mann Whitney, y para comparaciones entre tiempos el test t de Student para datos pareados o la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon. Las correlaciones se expresaron con el coeficiente Rho de Spearman. Se usó el programa estadístico SPSS (Version 21.0, SPSS Inc., Chicago, IL).

Se buscó someter a juicio las siguientes hipótesis.

Ho: el agregado de aceite de Sacha inchi no modifica la respuesta postprandial metabólica e inflamatoria producida por la ingesta de un desayuno rico en grasas en hombres adultos con baja actividad física, independientemente del estado metabólico del individuo

.

H1: el agregado de aceite de Sacha inchi modifica significativamente la respuesta postprandial metabólica e inflamatoria producida por la ingesta de un desayuno rico en grasas en hombres adultos con baja actividad física, y las modificaciones producidas se relacionan con el estado metabólico del individuo.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CAPITULO 1. Estado basal.

La muestra quedó conformada por 42 participantes de sexo masculino con edad promedio de 40.0 ± 8.9 años, índice de masa corporal (IMC) de $26.6 \pm 4.8 \text{ kg/m}^2$ y perímetro de cintura (PC) de $94.1 \pm 12.0 \text{ cm}$. No se observaron variaciones significativas durante el tiempo que duró el estudio en ninguno de los indicadores antropométricos de obesidad ($p=0.073$ y 0.584 , respectivamente), ni en los valores evaluados en ayunas, como se observa en la tabla 16.

Tabla 16 Valores basales previos a ambas intervenciones (N=42).

	HFM			HFM + S			p
	25	50	75	25	50	75	
Glucosa (mg/dL)	83.85	88.90	92.75	81.90	88.60	94.23	0.703
Insulina (uUI/mL)	6.55	13.68	20.45	5.15	9.55	17.88	0.207
CT (mg/dL)	147.53	164.35	189.05	154.44	172.77	196.75	0.094
HDL-C (mg/dL)	41.80	47.85	55.10	41.78	47.40	54.33	0.605
TAG (mg/dL)	75.75	122.00	164.50	75.00	98.00	179.50	0.392
LPS (EU/dL)	.26	.47	.94	.22	.55	1.04	0.557
IL-6 (pg/dL)	.62	1.42	2.17	.71	1.38	1.65	0.220
PCR (mg/L)	.79	1.43	2.38	.56	1.11	2.22	0.253
HOMA-IR	1.34	2.84	4.72	1.1601	2.1796	3.5572	0.237
ISI 0	.73	.98	1.34	.8659	1.1097	1.4021	0.163

No obstante haberse observado valores cercanos a los referentes de normalidad, la amplitud de los intervalos intercuartílicos permite inferir la heterogeneidad del

grupo, con un moderado número de participantes con valores indicativos de desórdenes metabólicos.

Este comportamiento evidencia que la estrategia de tomar participantes con distintos grados de obesidad fue adecuada para el propósito de estudiar la influencia de distintos estados metabólicos sobre la respuesta postprandial.

4.2 CAPÍTULO 2. Efectos postprandiales de la ingesta de una comida rica en grasas (HFM).

4.2.1 Efectos de HFM sobre el metabolismo postprandial de glúcidos. (N=42)

El estado postprandial es el tiempo que transcurre luego de una ingesta de alimentos. En el presente estudio, se observó un aumento en los niveles de glucosa (G) e insulina (Ins) a la hora, con disminución a las 4 horas hasta valores inferiores a los de ayunas, manteniéndose sin embargo entre los valores de referencia en todos los casos (Figura 18).

Resulta interesante observar un incremento en la variabilidad de los resultados a la hora postprandial, lo que puede corresponder a diferencias en las respuestas frente al reto alimenticio, tal como se ha visto reportado en literatura [136-138].

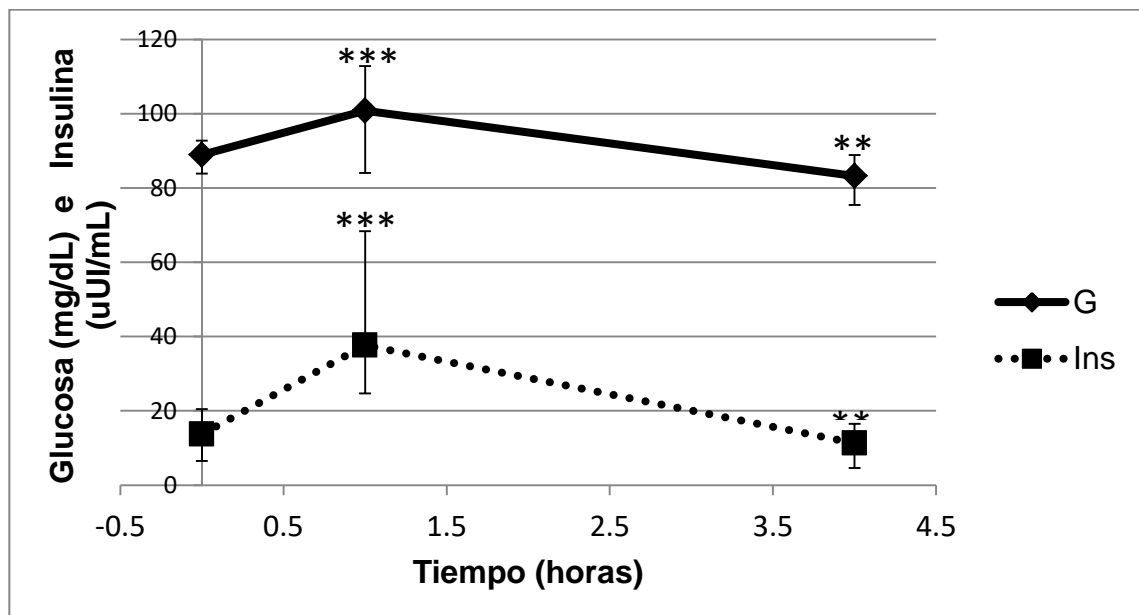


Figura 18. Concentraciones de glucosa e insulina en suero, durante la intervención con HFM. (n=42).

Las marcas * indican diferencias significativas respecto a ayunas (**p<0.01; ***p<0.001)

Como consecuencia de la elevada variabilidad en las respuestas a la hora, los índices que estiman la función de la célula beta, en la primera hora (IGI 1h) o en la totalidad de los tiempos del estudio (IGI 4h) se vieron igualmente afectados, mostrando alta heterogeneidad, como se observa en la Tabla 17.

Tabla 17 Estimadores de función pancreática postprandial, con HFM (N=42).

		Percentiles		
		25	50	75
IGI 1h	Post 1 hora	-17.71	218.62	365.93
IGI 4h	Post total	21.45	33.02	56.33

Esta situación resulta coherente con el hecho de que el grupo estuvo conformado por individuos con distintos estados metabólicos, cuya funcionalidad pancreática difería debido a sus condiciones, eventos que serán discutidos posteriormente.

4.2.2 Efectos de HFM sobre el metabolismo postprandial de lípidos. (N=42)

En lo que respecta al perfil lipídico, la ingesta de HFM produjo un aumento significativo para todos los componentes, especialmente en las concentraciones de TAG, las que se mantuvieron por encima del valor de ayuno durante las 4 horas que duró la observación.

La literatura reporta que los valores de TAG pueden permanecer elevados hasta 8 horas después de la ingesta, dependiendo del estado metabólico del individuo. Aunque con menores incrementos, también fue observable un aumento en las cifras de colesterol total, HDL y no HDL, éste último solo en la primera hora. Los resultados obtenidos se muestran en la figura 19.

Tomando en consideración frecuencias promedio de ingesta de alimentos de 4 horas, este hallazgo demuestra que el organismo pasa la mayor parte de su tiempo de vigilia en condiciones postprandiales, lo que otorga a este periodo una especial relevancia como objeto de estudio para la prevención y el seguimiento de enfermedades cardiovasculares, tal como ha sido recomendado en la literatura [126, 138].

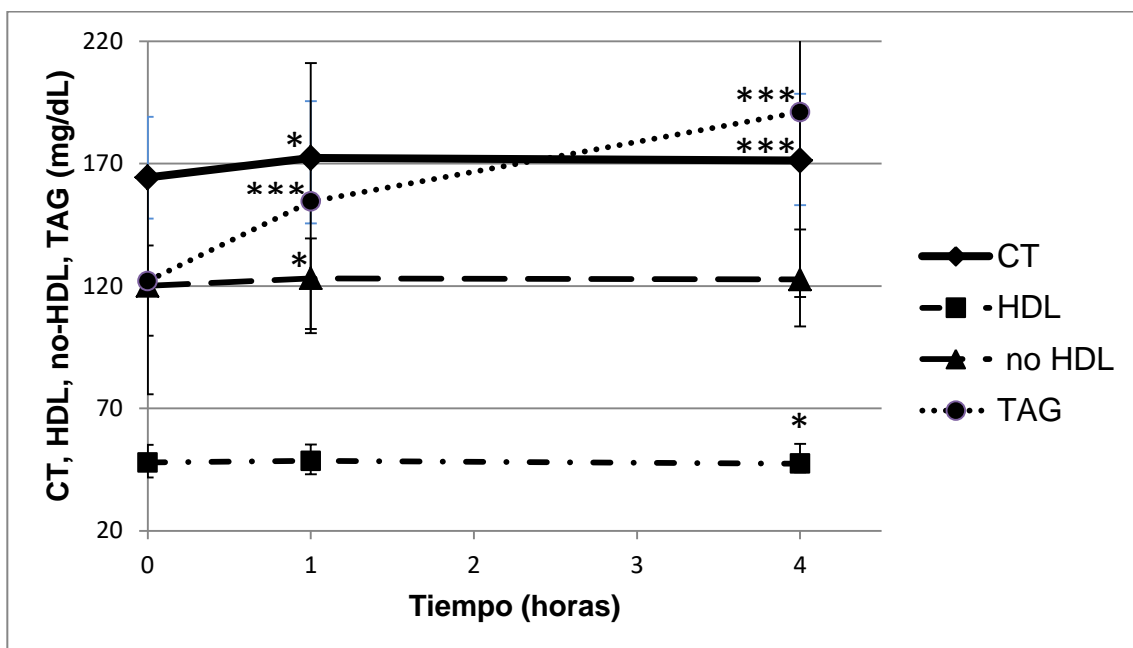


Figura 19. Concentraciones de colesterol total, HDL y no HDL en suero durante la intervención con HFM (n=42).

Las marcas * indican diferencias significativas respecto a ayunas (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$)

4.2.3 Efectos de HFM sobre la respuesta inflamatoria postprandial. (N=42)

Parte del enlace entre la etapa postprandial y el riesgo cardiovascular se ha asignado al estado de endotoxemia e inflamación que sigue al consumo de una comida rica en grasas, especialmente saturadas [40, 139], lo que resulta coherente con los aumentos en los niveles de LPS y PCR observados a las 4 horas (Fig. 20).

El aumento de LPS podría explicarse como resultado de su translocación desde intestino, tal como se ha reportado [140] y su magnitud podría estar relacionada con la ingesta habitual de dietas hipercalóricas [141].

Se ha propuesto que los LPS ingresarían al torrente sanguíneo formando parte de lipoproteínas ricas en TAG. Nuestros resultados hallaron correlación significativa entre los niveles de TG y LPS a las 4 horas post HFM, incluso controlando por variables como IMC, PC y edad ($r=0.484$; $p=0.002$), lo que avalaría la relación entre estos parámetros.

Respecto a los otros marcadores evaluados, la ingesta de HFM no modificó la concentración en suero de IL-6 a las 4 horas, a pesar del aumento significativo en los niveles circulantes de PCR.

La IL-6 es un reconocido disparador de la síntesis de PCR hepática, sin embargo el comportamiento de IL-6 en nuestro estudio no parece explicar el aumento de PCR. Esta discrepancia podría estar relacionada con incrementos derivados de la activación de otras vías, la presencia de picos tempranos de IL-6 o ser propias de las cinéticas de producción y metabolización de ambas moléculas.

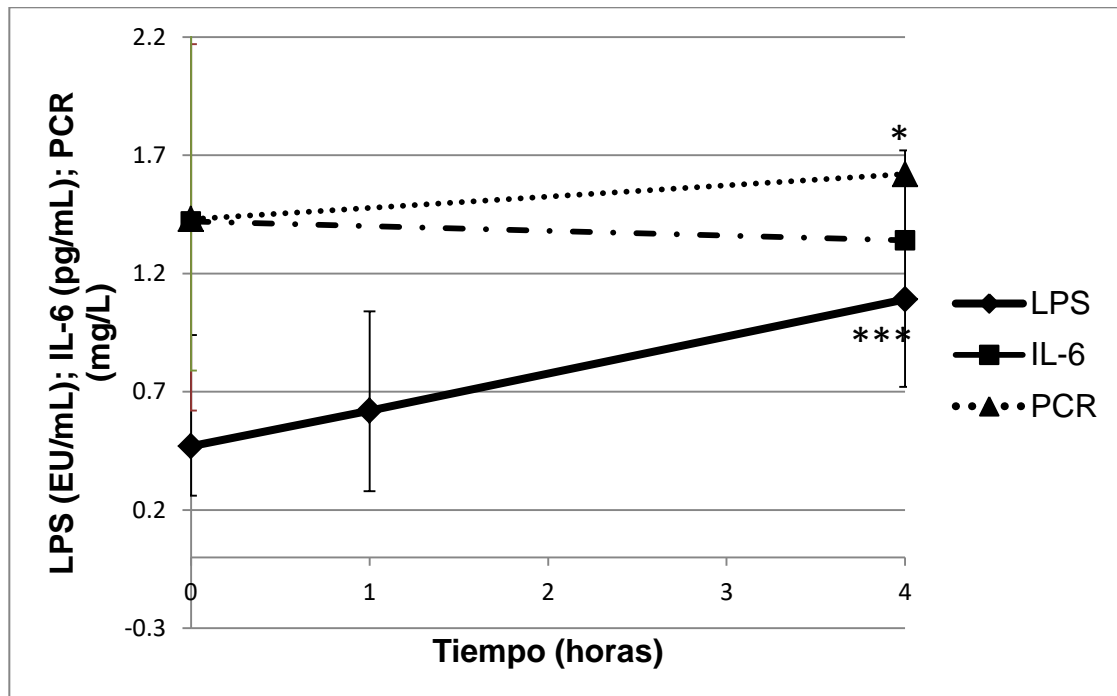


Figura 20. Concentraciones de LPS, IL-6 y usPCR en suero, durante la intervención con HFM (n=42).

La expresión de IL-6 en PBMC, por su parte, tomando como referencia el momento de ayunas, arrojó un valor de veces de cambio de 1.15 (intervalo intercuartílico: -1.68 a 1.95).

Estos valores muestran que la expresión de IL-6 fue un 15 % mayor que en ayunas, sin embargo la amplitud de su intervalo intercuartílico evidencia la heterogeneidad de respuesta del grupo bajo intervención.

La figura 21 muestra los resultados, expresados como \log_2 de DDCT.

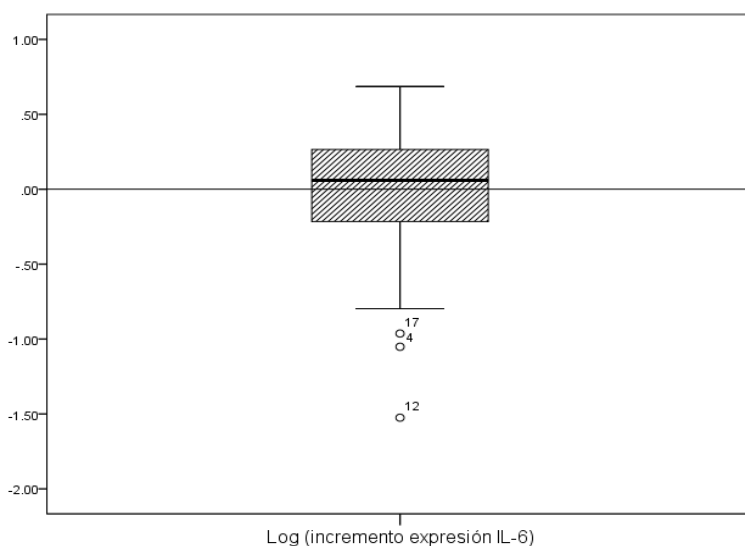


Figura 21. Variación de la expresión de IL-6 en PBMC, a las 4 horas post HFM respecto al momento de ayunos (en \log_2 DDCT) (n=42).

Todo lo anterior, dirigió el análisis de los resultados hacia estudiar la relación entre la presencia de obesidad abdominal y los perfiles metabólicos e inflamatorios en ayunas y post ingesta de HFM.

La comparación de los índices mostró importantes diferencias, con presencia de indicadores de IR en el grupo con obesidad, tanto en condiciones de ayunas como post HFM, como se muestra en la Tabla 18.

Tabla 18 Indicadores de insulinoresistencia en ayunas y post consumo de HFM, de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal (O/n=21 y NO/n=21/)

Parámetro	Tiempo	No Obesos n=21			Obesos n=21			p
		25	50	75	25	50	75	
HOMA-IR	Ayunas	0.99	1.73	3.67	2.08	3.51	5.60	0.004
ISI 0	Ayunas	0.86	1.22	1.47	0.65	0.87	1.13	0.003
IGI 1h	Post HFM 1 ^a . hora	-229.45	45.63	176.21	242.64	329.13	502.43	0.000
IGI pp	Post HFM	17.49	22.38	36.83	32.72	51.44	71.48	0.000

El producto de este análisis fue publicado en el volumen 38, supl 1 de la revista Biomédica y se presentan a continuación.

4.2.3.1 Relación entre efectos postprandiales de HFM y obesidad abdominal.

En este artículo se analiza de qué manera la presencia de obesidad abdominal influye en los efectos producidos por la ingesta de una comida rica en grasas (HFM) sobre el metabolismo de glúcidos, lípidos y estado inflamatorio.

- **Impacto metabólico e inflamatorio postprandial de una comida rica en grasas y su relación con la presencia de obesidad abdominal. Biomédica.2018;38(Supl.1). <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3911>**

Alicia Norma Alayón^{1,2}, Ana Patricia Rivadeneira², Carlos Herrera², Heidy Guzmán², Dioneris Arellano², Isabella Echeverri³

¹ Grupo de Nutrición, Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

² Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de San Buenaventura, Seccional Cartagena, Calle Real de Ternera Diagonal 32 # 30 – 96, Colombia.

³ Grupo de Investigación Biomédica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad ICESI, calle 18 # 122-135, Cali, Colombia.

Correspondencia:

Alicia Norma Alayón

Universidad de San Buenaventura, Diagonal 32, No. 30-966, Cartagena, Bolívar, Colombia.

Tel.: (575) 6535555, ext 202

aalayon@usbctg.edu.co; alinorala@gmail.com

Contribución de los autores:

Todos los autores contribuyeron a la adquisición, análisis e interpretación de los datos y participaron en la escritura del artículo.

RESUMEN

Introducción. La etapa postprandial se asocia con el incremento de marcadores relacionados con riesgo cardiovascular, y su intensidad depende del estado metabólico.

Objetivo. Determinar el impacto de la ingesta de una comida rica en grasas sobre el perfil metabólico e inflamatorio y su relación con la presencia de obesidad abdominal.

Materiales y métodos. Ensayo clínico en 42 individuos (21 con obesidad abdominal). Medición en sangre de glucosa, insulina, perfil lipídico, proteína C reactiva, lipopolisacáridos e interleucina 6, en ayunas y post ingesta.

Resultados. La obesidad se acompañó de insulinoresistencia y niveles superiores de triacilglicéridos y proteína C reactiva en ayunas y mostró respuestas postprandiales más elevadas para glucosa, insulina y triacilglicéridos. La interleucina 6 disminuyó en el grupo sin obesidad y los lipopolisacáridos aumentaron en ambos grupos.

Conclusión. La ingesta de una comida rica en grasas produce mayor impacto en las variables glucémicas en el grupo con obesidad, y aunque afecta en forma similar los lípidos en ambos grupos, el incremento de triacilglicéridos es mayor en presencia de concentración basal elevada y promueve el aumento de LPS. El estado inflamatorio basal y postprandial afecta más al grupo con obesidad. El momento postprandial refleja el estado más frecuente de los individuos en un día normal y permite mostrar la capacidad de respuesta metabólica a la ingesta de alimentos así como evidenciar estados tempranos de riesgo metabólico.

Palabras Clave. Obesidad; inflamación; periodo postprandial; dieta alta en grasa; resistencia a la insulina; lipopolisacáridos.

ABSTRACT

Introduction: The postprandial stage is associated with the increase of markers related to cardiovascular risk, and its intensity depends on the metabolic state.

Objective: To determine the impact of a high-fat meal intake on the metabolic and inflammatory profile, and its relationship to abdominal obesity.

Materials and methods: This clinical trial included 42 individuals (21 with abdominal obesity). We measured glucose, insulin, lipid profile, reactive C protein, lipopolysaccharides, and interleukin 6 in fasting blood, and four hours after eating.

Results: Obesity was accompanied by insulin resistance and higher levels of fasting triacylglycerides and C-reactive protein, and showed higher postprandial responses to glucose, insulin and triacylglycerides. Interleukin 6 decreased in the non-obese group, and lipopolysaccharides increased in both groups.

Conclusions: A high-fat food intake produced a greater impact on the glycemic variables in the group with obesity. It similarly affected the lipids in both groups, but the increase of triacylglycerides is higher in the presence of an elevated basal concentration, and promotes the increase of lipopolysaccharides. The basal and postprandial inflammatory state affects more the group with obesity. The postprandial moment reflects the most frequent state of the individuals on a normal

day, and allows showing the capacity of metabolic response to food intake, as well as to demonstrate early metabolic risk states.

Keywords: Obesity; inflammation; postprandial period; diet, high-fat; insulin resistance; lipopolysaccharides

Introducción

La ingesta de alimentos, sumado al procesamiento y aprovechamiento de los nutrientes, son elementos claves para la supervivencia, sin embargo se convierten también en un reto para la homeostasis metabólica (1).

El estado postprandial se acompaña de entornos pro-inflamatorios, en magnitud variable dependiendo de la presencia de comorbilidades, como la obesidad abdominal, y del tipo de alimento ingerido (2,3). Dicho estado se caracteriza por el aumento en circulación de lipoproteínas ricas en triacilglicéridos y lipopolisacáridos (LPS), los cuales se relacionan con el aumento de marcadores inflamatorios (4) y formación de células espumosas (5), contribuyendo al desarrollo de enfermedad cardiovascular.

Los análisis de la situación colombiana y de ciudades entre las cuales se halla Cartagena, muestran que en la actualidad se vive una transición demográfica y nutricional caracterizada por una tendencia creciente en la prevalencia de obesidad (6) y con enfermedades cardiovasculares ocupando los primeros lugares en morbi-mortalidad (7,8). Sumado a ello, los hábitos en nuestra población hacen que un individuo promedio pase la mayor parte del día en estado postprandial, con consumos hipercalóricos y baja actividad física (9), lo que motivó a realizar esta investigación para conocer de qué manera la ingesta de una comida estandarizada, rica en grasas, modifica los perfiles metabólicos de glúcidos, lípidos e inflamación, y cómo influye en ese impacto la presencia de obesidad abdominal.

Materiales y métodos

Se llevó a cabo un ensayo clínico en 42 participantes adultos escogidos por muestreo aleatorio a partir de una población de empleados de una universidad de la ciudad, a los que previamente se les había aplicado una entrevista para verificar los criterios de inclusión (sexo masculino, bajo nivel de actividad física y aparentemente sanos). Se excluyeron del estudio fumadores, personas en dieta, o con ingesta de medicamentos o vitaminas, alto consumo de alcohol o proteína C reactiva mayor que 10 mg/L.

A los participantes se les solicitó que no hicieran cambios en sus estilos de vida durante la semana anterior al estudio, y que asistieran con 12 horas de ayuno para una toma de muestra de sangre basal, y dos más a la hora y 4 horas

después de ingerir un desayuno que incluyó 100 g de pan untado con 70 g de mantequilla y acompañado de un café azucarado [874 cal, 59% de las cuales provenían de grasas (saturadas 32%, monoinsaturadas 23%, poliinsaturadas 4%), 37% de hidratos de carbono y 4% proteínas]. Durante la espera se les permitió beber agua, pero no consumir otros alimentos ni realizar ejercicios físicos. El tiempo de seguimiento se escogió considerando intervalos promedio habituales entre comidas de 4 horas.

Los sueros fueron separados y conservados a -20 °C para posterior cuantificación de glucosa, insulina, colesterol total (CT) y fracción HDL (C-HDL), triacilglicéridos (TAG), lipopolisacáridos (LPS), interleucina 6 (IL-6) y proteína C reactiva (PCRus). Las concentraciones de glucosa y perfil lipídico se midieron por métodos enzimáticos espectrofotométricos utilizando kits comerciales (Human). Para insulina e IL-6 se utilizaron técnicas de enzimoimmunoensayo (Insulin-AccuBind y Human IL-6 High Sensitivity-eBioscience, respectivamente). El índice HOMA-IR se calculó según la fórmula: $\text{insulina } (\mu\text{UI/mL}) \times \text{glucosa } (\text{mmol/L}) / 22.5$. La PCRus se determinó mediante el método turbidimétrico cuantitativo de alta sensibilidad (Spinreact). Las muestras en ayunas y a las 4 horas, destinadas a los marcadores inflamatorios, fueron tomadas en brazos distintos y en venas de fácil acceso, a efectos de controlar posibles contribuciones inespecíficas derivadas de la punción.

Todo el material para la determinación de LPS fue certificado como apirógeno y se utilizó el método cromogénico de punto final (QCL-1000™ Endpoint Chromogenic LAL Assays-Lonza), previa dilución del suero 1/20 con agua libre de pirógenos e inactivación a 75 °C por 15 minutos. Para todos los test, las curvas estándares tuvieron coeficiente de correlación superior a 0.97. Para controlar reacciones de inhibición, se adicionó una cantidad conocida de LPS (0.4 EU/mL), lográndose una recuperación de 108 %, lo cual cumple el estándar de calidad establecido por el fabricante ($\pm 25\%$). Las pruebas se llevaron a cabo en los laboratorio de Atención a la Comunidad y de Investigaciones IDIBAM, de la Universidad de San Buenaventura en Cartagena, con los estándares y controles de calidad requeridos para asegurar la validez y confiabilidad de los resultados y siguiendo las especificaciones de los fabricantes.

Consideraciones éticas:

El proyecto fue sometido a evaluación y aprobación por parte de los Comités de Bioética de las Universidades de San Buenaventura e ICESI, pertenecientes a las ciudades colombianas Cartagena y Cali, respectivamente. Todos los participantes firmaron cláusula de consentimiento informado antes de comenzar el estudio. Esta investigación forma parte de un macroproyecto cuyo objetivo es determinar el impacto del agregado de aceite de Sacha inchi a una comida rica en ácidos grasos, registrado en clinicaltrials.gov (NCT02886169).

Análisis estadístico

El número de participantes se calculó con la fórmula para comparación de medidas repetidas en dos grupos y un adicional del 15% para prevenir posibles pérdidas. El impacto global de la intervención se midió como área bajo la curva (AUC) calculada por el método trapezoidal, y el aumento sobre el basal se estimó como incremento del área bajo la curva (iAUC), realizando sustracción previa de los valores en ayunas a cada medida postprandial (10,11).

Se aplicó el test de Shapiro Wilk para verificar normalidad de variables cuantitativas y test de Levene para examinar igualdad de varianzas. Las medidas de tendencia central se expresaron como promedio y desvío estándar (DE) o como medianas y rangos intercuartílicos (RIC), dependiendo del comportamiento de las variables.

Para las comparaciones entre grupos se utilizaron el test t de Student o la U de Mann Whitney y para las comparaciones pre-post el test t de Student para muestras relacionadas o prueba de los rangos con signo de Wilcoxon, para las variables paramétricas o no paramétricas, respectivamente. Las correlaciones se establecieron calculando los coeficientes Rho de Pearson o Spearman (r). Se usó el paquete estadístico SPSS (Version 21.0, SPSS Inc., Chicago, IL).

Resultados

La muestra quedó conformada por 42 hombres, 21 con obesidad abdominal. Las edades fueron $38,7 \pm 10,1$ años y $41,4 \pm 7,6$ años, para el grupo sin obesidad (NO) y con obesidad (O), respectivamente, sin diferencia significativa ($p=0,339$; ICdif95%: -8,2 a 2,9). En ese mismo orden, los IMC fueron de $23,0 \pm 2,2$ kg/m² y $30,1 \pm 4,1$ kg/m² ($p=0,001$, ICdif95%: -9,1 a -5,0) y los perímetros de cintura de $85,0 \pm 6,3$ cm y $103,2 \pm 8,9$ cm ($p=0,001$; ICdif95%: -23,0 a -13,4).

Los valores de glucosa, insulina y HOMA-IR en ayunas, y el impacto de la ingesta se muestran en la tabla 10. La glucemia en ayunas no superó los límites normales en ninguno de los participantes, aunque mostró una ligera tendencia a valores mayores en el grupo O, diferencia que alcanzó significancia estadística a la hora. La insulinemia mostró valores mayores en presencia de obesidad en todos los tiempos evaluados. El incremento del área bajo la curva de insulina fue menor en el grupo NO (iAUC: 32,6 μ UI/mL; RIC: 20,2-43,1) que en el grupo O (82,7 μ UI/mL; RIC: 40,2-133,9; $p=0,001$], pero no se halló diferencia para la glucosa, mientras que las áreas totales (AUC) fueron mayores para ambos parámetros en el grupo O.

Tabla 19 Niveles en ayunas y respuestas postprandiales de glucosa e insulina tras la ingesta de una comida rica en grasas, en los grupos sin obesidad abdominal (NO/n=21) y con obesidad abdominal (O/n=21).

Parámetro		NO Promedio (DE)	O Promedio (DE)	IC95% dif NO vs O	p (NO vs O)
GLUCOSA (mg/dL)	Ayunas	85,1 (8,8)	89,7 (6,7)	-9,5 a 0,3	0,065
	1 hora	91,9 (16,9)	106,0* (12,5)	-23,4 a -4,8	0,004
	4 horas	84,4 (11,3)	82,7* (9,6)	-6,8 a 6,3	0,936
	AUC	350,0 (43,5)	380,8 (33,0)	-54,9 a -6,8	0,013
INSULINA (μUI/mL)	Ayunas	10,3 (7,8)	17,6 (7,9)	-12,1 a -2,3	0,005
	1 hora	28,9* (16,4)	71,6* (40,6)	-62,2 a -23,5	0,001
	4 horas	9,2 (6,7)	13,0* (7,7)	-8,3 a 0,7	0,096
	AUC	76,8 (40,6)	171,5 (87,5)	-137,3 a -52,3	0,001
HOMA-IR	Ayunas	2,2 (1,7)	3,9 (1,8)	-2,8 a -0,6	0,004

* $p < 0,005$ respecto a ayunas

En lo concerniente a las variables lipídicas TAG, CT y HDL-C, sólo se registró diferencia entre los grupos para la concentración basal de TAG, mayor en el grupo O.

El CT y los TAG aumentaron luego de la intervención, y se mantuvieron durante todo el tiempo que duró el ensayo, tal como se muestra en la tabla 20.

Tabla 20 Niveles en ayunas y respuestas postprandiales lipídicas tras la ingesta de una comida rica en grasas, en los grupos sin obesidad abdominal (NO/n=21) y con obesidad abdominal (O/n=21).

Parámetro	Tiempo	NO (Rangos)			<i>p</i> <i>Tiempo vs ayunas</i>	O (Rangos)			<i>p</i> <i>Tiempo vs ayunas</i>	<i>p</i> <i>O vs NO</i>
		25	50	75		25	50	75		
TAG (mg/dL)	Ayunas	70,0	99,0	152,5	NA	106,5	154,0	180,5	NA	0,044
	1 hora	90,5	121,0	189,5	0,001	130,5	178,0	215,5	0,001	0,099
	4 horas	87,0	164,0	231,0	0,001	143,0	210,0	301,5	0,001	0,080
	iAUC	81,3	134,5	201,0	NA	46,8	147,5	278,8	NA	0,546
	AUC	360,0	570,0	770,8	NA	531,2	744,0	917,3	NA	0,046
CT (mg/dL)	Ayunas	141,8	156,9	184,6	NA	153,5	177,1	193,3	NA	0,222
	1 hora	139,4	161,0	185,9	0,237	158,7	176,3	202,5	0,033	0,222
	4 horas	151,4	167,5	189,2	0,018	151,8	179,5	201,0	0,017	0,365
	iAUC	-2,3	13,5	25,3	NA	0,9	14,0	35,4	NA	0,589
	AUC	572,6	673,6	726,1	NA	623,1	718,9	798,7	NA	0,232
HDL-C (mg/dL)	Ayunas	41,2	47,9	56,6	NA	41,8	47,8	54,4	NA	0,880
	1 hora	42,6	48,8	55,5	0,732	44,5	48,3	55,1	0,006	0,782
	4 horas	44,3	47,2	57,9	0,033	43,1	47,7	53,9	0,348	0,606
	iAUC	-2,2	5,4	13,3	NA	-1,2	3,2	11,5	NA	0,606
	AUC	174,7	190,5	218,1	NA	175,9	189,3	220,9	NA	0,890

TAG=triacilglicéridos; CT=colesterol total; HDL-C= colesterol de lipoproteínas de alta densidad; iAUC= Área incremental bajo la curva; AUC=Área bajo la curva. NA: No aplica.

Las concentraciones de TAG en ayunas correlacionaron con los valores a las 4 horas ($r=0,854$; $p<0,001$), con el AUC de TAG ($r=0,936$; $p<0,001$) y con el iAUC ($r=0,474$; $p<0,001$).

Al comparar los grupos clasificados de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal el iAUC de TAG fue similar entre ellos, sin embargo cuando los participantes se reclasificaron según niveles de TAG, el grupo con TAG en ayunas superiores a 150,0 mg/dL ($n=16$; 38%) mostró un iAUC de TAG (iAUC TAG: 179,3 mg/dL; RIC: 123,6-283,9) significativamente mayor que los restantes 26 sujetos ($n=26$; 62%) que tuvieron TAG por debajo de ese valor (iAUC TAG: 113,3 mg/dL; RIC: 41,1-197,6; $p=0,041$).

En el tabla 21 se muestran los valores basales y postprandiales de los marcadores inflamatorios para ambos grupos. La proteína C reactiva en ayunas y a las 4 horas fue mayor en el grupo O. Tras la ingesta, la IL-6 disminuyó en el grupo NO y los LPS aumentaron en ambos grupos. Los niveles de TAG y LPS a las 4 horas mostraron correlación positiva significativa solamente en presencia de obesidad ($r=0,635$; $p=0,002$).

Tabla 21 Concentraciones en ayunas y postprandiales de los marcadores inflamatorios en los grupos sin obesidad abdominal (NO/ $n=21$) y con ella (O/ $n=21$).

Parámetro	Tiempo	NO (Rangos intercuartílicos)			p Tiempo vs ayunas	O (Rangos intercuartílicos)			p Tiempo vs ayunas	p O vs NO
		25	50	75		25	50	75		
IL-6 (pg/mL)	Ayunas	0,61	1,41	2,03	NA	1,07	1,44	2,41	NA	0,489
	4 horas	0,48	0,87*	2,10	0,042	1,10	1,39	2,21	0,543	0,182
PCR-us (mg/L)	Ayunas	0,50	0,95	1,70	NA	1,21	2,11	2,90	NA	0,009
	4 horas	0,46	1,04	1,70	0,173	1,62	2,02	2,76	0,114	0,002
LPS (EU/mL)	Ayunas	0,27	0,49	1,09	NA	0,26	0,38	0,92	NA	0,497
	1 hora	0,19	0,60	1,04	0,986	0,38	0,70	1,05	0,122	0,615
	4 horas	0,72	1,33**	1,72	0,005	0,67	1,06	1,70**	0,004	0,513

IL-6=interleukina 6; PCRus=proteína C reactiva ultrasensible; LPS=lipopolisacáridos; NA=No aplica. * $p<0,05$; ** $p<0,01$ respecto a ayunas

Discusión

Ambos grupos mostraron concentraciones similares de glucemia basales, e inferiores a 100 mg/dL, sin embargo la cuantificación de insulina y el cálculo de HOMA-IR en ayunas evidenciaron el estado de insulinoresistencia en el grupo O. Adicionalmente el reto alimentario permitió mostrar, en este grupo, la magnificación de las alteraciones fisiopatológicas en la homeostasis, lo que otorga al momento postprandial una relevancia especial en la detección oportuna y temprana de este tipo de desórdenes (12) y permite ilustrar lo inadecuado de descartar alteraciones del metabolismo de los glúcidos con determinaciones aisladas de glucemias en ayunas.

Tal como se observa en el tabla 19, sumado al mayor incremento a la hora postprandial en las concentraciones de glucosa e insulina en el grupo O, resultó interesante en este grupo la observación de una caída a las 4 horas a valores menores que los de ayuno, situación no observable en el grupo NO, similar a lo hallado por Rubin y cols, 2010 (13).

Este comportamiento alerta sobre fallas en la regulación de la insulina y exceso de secreción post estímulo, eventos que contribuyen al agotamiento del páncreas y favorecen los efectos derivados de la hiperinsulinemia, reflejando la pérdida de la capacidad de restaurar la homeostasis, considerada en la actualidad como parte del concepto de salud, el cual incluye la habilidad para adaptarse y manejar de manera autónoma los retos como la ingesta de alimentos (14).

El impacto específico derivado de la intervención, medido como iAUC, fue similar entre los grupos para glucosa pero no para insulina, mostrando el esfuerzo pancreático del grupo O para controlar la glucemia, mientras que el aumento global (AUC) fue mucho mayor en presencia de obesidad para ambos, lo que pone en evidencia la sobrecarga bioquímica que acompaña el desorden metabólico en este grupo.

A diferencia de lo hallado para la glucemia, la tabla 20 muestra que las concentraciones de TAG en ayunas fueron mayores en el grupo O y los valores postprandiales de TAG y CT se mantuvieron por encima de los de ayuno, en todos los tiempos de evaluación, en ambos grupos, similar a lo reportado por otros estudios (15). Es importante destacar que, si asumimos frecuencias alimentarias promedios de 4 horas y alimentos ricos en grasas, en un día normal un individuo no lograría regresar a sus valores lipídicos de ayunas durante la mayor parte de su vigilia. Lo anterior evidencia que la medida de concentraciones no basales, especialmente de TAG y CT, aun cuando pueda resultar más complicada desde un punto de vista operativo, permite verificar la respuesta metabólica a la ingesta y mostrar el estado más habitual de un día normal.

Sumado a ello, aunque el papel de los TAG como factor de riesgo cardiovascular ha sido controversial (16), estudios clínicos recientes han evidenciado que, especialmente los niveles postprandiales, se relacionan con enfermedad coronaria (17).

Nuestro estudio mostró diferencias en los TAG en ayunas entre los grupos clasificados por obesidad pero similares respuestas postprandiales, a diferencia de otras investigaciones que demostraron aumentos mayores en obesos, comparados con no obesos, pero interviniendo grupos con TAG en ayunas en niveles normales (18).

Lo anterior motivó a reclasificar nuestros grupos según la presencia de niveles alterados de TAG en ayunas ($\geq 150,0$ mg/dL), lo que permitió mostrar en el grupo con TAG elevados mayores incrementos post ingesta. Estos hallazgos, sumados a la significativa correlación entre ambos valores, avalan lo expresado por Almeda y col, 2014, en el sentido de que la concentración de TAG basal representa uno de los principales determinantes de la lipemia postprandial (19).

En estudios previos, la ingesta de un desayuno de 1416 cal (52 % de las cuales provenían de grasas) en adultos con sobrepeso había mostrado incrementos en CT y TAG, con aumentos de marcadores inflamatorios y LPS (20). De acuerdo con la evidencia, estos LPS se transportarían ligados a lipoproteínas ricas en TAG, y participarían en procesos de inflamación y expresión de citocinas y moléculas de adhesión, contribuyendo al desarrollo de enfermedad cardiovascular (21-24).

En el presente estudio encontramos que los valores basales de LPS e IL-6 fueron similares en ambos grupos pero mostraron diferente comportamiento postprandial, como puede observarse en la tabla 21. En relación con la PCR, la concentración basal fue mayor en el grupo O, mostrando el proceso crónico, sin variación post ingesta, lo que parece indicar que no responde en los tiempos de una intervención aguda, similar a lo hallado por otros autores (3,25).

En lo que respecta a la IL-6, este marcador había mostrado resultados contradictorios en estudios anteriores, lo que llevó a postular que sus aumentos pueden deberse a variaciones fisiológicas (26) o a efectos derivados de la inflamación local por las punciones repetidas o el uso de catéter (27,28). Las precauciones en la toma de muestra, explicadas anteriormente, aseguran nuestros resultados y permiten mostrar que la caída en los niveles de IL-6 del grupo NO, coincidente con otros autores (29), estaría reflejando un menor impacto inflamatorio en este grupo.

Los LPS en ambos grupos aumentaron en la etapa postprandial, similar con lo hallado en literatura y correlacionaron con el incremento de TAG en el grupo O, tal

como era esperable debido a las evidencias que muestran que los LPS entran a circulación mediados por lipoproteínas ricas en TAG (30). El aumento de LPS en la etapa postprandial en el grupo NO discrepa de lo hallado en otros estudios (23), lo que podría deberse a la mayor edad de nuestros participantes, lo cual ha demostrado afectar las respuestas postprandiales (31). Por otra parte, la ausencia de correlación entre los niveles de TAG y LPS en este mismo grupo podría deberse a diferencias derivadas del tipo de alimentación y niveles de translocación previos de LPS, con desarrollo de memorias adaptativas inmunes o presencia de proteínas de transporte que podrían enmascarar valores basales o postprandiales aumentados (32,33), o reflejarse en habilidades diferentes para el manejo de los incrementos de endotoxinas (34), aspectos que deberán ser abordados a futuro.

A diferencia de otros estudios que ensayan cargas lipídicas en forma de batidos y con seguimiento a 8 horas, nuestro ensayo incluyó un alimento similar en contenido y consistencia a un consumo habitual y con un seguimiento a 4 horas, considerado el tiempo promedio entre comidas. Lo anterior otorga a nuestro estudio la fortaleza de asegurar tiempos de vaciado gástrico y digestión similares a una ingesta común, que pudieran alterarse con el consumo de cargas grasas exclusivamente líquidas. La aleatorización del muestreo, las indicaciones para la semana previa al estudio y el riguroso cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión permitieron el control de variables derivadas de los estilos de vida.

Se requieren, sin embargo, estudios posteriores que incluyan mayor número de variables, especialmente del estado inflamatorio, así como intervenciones con diferentes ácidos grasos o seguimientos a largo plazo para evaluar ingestas crónicas.

En suma, los resultados obtenidos muestran que la ingesta de una comida rica en ácidos grasos saturados modifica las variables relacionadas con el metabolismo de los glúcidos en ambos grupos, con mayor impacto en el grupo con obesidad magnificando el estado de insulinoresistencia basal. En lo que respecta a lípidos, ambos grupos desarrollan similar respuesta para colesterol, a diferencia de lo hallado para TAG, parámetro que aumenta mucho más en el grupo con obesidad y especialmente en presencia de mayor concentración en ayunas. El grupo sin obesidad cursa con menores niveles de inflamación basal y postprandial, estimado por las concentraciones de PCR en ayunas y la disminución de IL-6 post carga, respectivamente.

Cabe destacar que, aunque requiere de una mayor inversión de recursos y una mejor estandarización a fin de fortalecer su valor clínico, la evaluación del estado postprandial refleja el estado más habitual de un día normal y hace posible evidenciar la respuesta metabólica a la alimentación, contribuyendo a identificar los trastornos metabólicos tempranos relacionados con la presencia de obesidad abdominal en personas aparentemente sanas.

Conflictos de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Fuentes de financiación: Este proyecto fue financiado con recursos provenientes de las convocatorias internas de la Universidad ICESI, Cali y de la Universidad de San Buenaventura, Cartagena.

Bibliografía

1. Wopereis S, Wolvers D, van Erk M, Gribnau M, Kremer B, van Dorsten FA, *et al.* Assessment of inflammatory resilience in healthy subjects using dietary lipid and glucose challenges. *BMC Medical Genomics*. 2013;6(44). <http://dx.doi.org/10.1186/1755-8794-6-44>
2. Laugerette F, Vors C, Peretti N, Michalski MC. Complex links between dietary lipids, endogenous endotoxins and metabolic inflammation. *Biochimie*. 2011;93:39-45. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2010.04.016>
3. Schwander F, Kopf KA, Buri C, Portmann R, Egger L, Chollet M, *et al.* A dose-response strategy reveals differences between normal-weight and obese men in their metabolic and inflammatory responses to a high-fat meal. *Fat Meal J Nutr*. 2014;144:1517-23. <http://dx.doi.org/10.3945/jn.114.193565>
4. Al-Disi DA, Al-Daghri NM, Khan N, Alfadda AA, Sallam RM, Alsaif M, *et al.* Postprandial effect of a high-fat meal on endotoxemia in arab women with and without insulin-resistance-related diseases. *Nutrients*. 2015;7:6375-89. <http://dx.doi.org/10.3390/nu7085290>
5. Maffei C, Pinelli L, Surano MG, Fornari E, Cordioli S, Gasperotti S, *et al.* Pro-atherogenic postprandial profile: Meal-induced changes of lipoprotein sub-fractions and inflammation markers in obese boys. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012;22(11):959-65. <http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2010.12.009>
6. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia, 2010. Resumen ejecutivo ENSIN 2010 [Fecha de consulta: enero 12 de 2017]. Disponible en: <http://www.icbf.gov.co/portal/page/portal/Descargas1/Resumenfi.pdf>
7. Ministerio de Salud y Protección Social. Análisis de Situación de Salud. Colombia (ASIS), 2015. [Fecha de consulta: enero 12 de 2017]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-2015.pdf>
8. Departamento Administrativo Distrital de Salud, Cartagena. Perfil epidemiológico del Distrito de Cartagena, 2014. [Fecha de consulta enero 3 de 2017]. Disponible en: http://www.dadiscartagena.gov.co/images/docs/saludpublica/perfil_epidemiologico_2014.pdf
9. Saenz S, Gonzalez F, Diaz S. Hábitos y trastornos alimenticios asociados a factores socio-demográficos, físicos y conductuales en universitarios de Cartagena, Colombia. *Rev Clin Med Fam*. 2011;4(3):193-204. <http://dx.doi.org/10.4321/S1699-695X2011000300003>
10. Guerçi B, Paul JL, Hadjadj S, Durlach V, Vergés B, Attia N, *et al.* Analysis of the postprandial lipid metabolism: use of a 3-point test. *Diabetes Metab (Paris)*. 2001;27:449-57. Doi: DM-09-2001-27-4-1262-3636-101019-ART4

11. Carstensen M, Thomsen C, Hermans K. Incremental area under response curve more accurately describes the triglyceride response to an oral fat load in both healthy and type 2 diabetic subjects. *Metabolism*. 2003;52(8):1034-7. [http://dx.doi.org/10.1016/S0026-0495\(03\)00155-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0026-0495(03)00155-0)
12. Patarrão RS, Lutt WW, Afonso RA, Ribeiro RT, Fernandes AB, Boavida JM, *et al.* Postprandial but not fasting insulin resistance is an early identifier of dysmetabolism in overweight subjects. *Can J Physiol Pharmacol*. 2012;90(7):923-31. <http://dx.doi.org/10.1139/y2012-086>
13. Rubin D, Helwig U, Nothnagel M, Folsch UR, Schreiber S and Schrezenmeir J. Association of postprandial and fasting triglycerides with traits of the metabolic syndrome in the Metabolic Intervention Cohort Kiel. *Eur J Endocrinol*. 2010;162(4):719-27. <http://dx.doi.org/10.1530/EJE-09-0446>
14. Kardinaal AFM, van Erk MJ, Dutman AE, Stroeve JHM, van de Steeg E, Bijlsma S, *et al.* Quantifying phenotypic flexibility as the response to a high-fat challenge test in different states of metabolic health. *FASEB J*. 2015;29(11):4600-13. <http://dx.doi.org/10.1096/fj.14-269852>
15. Silliman K, Mahoney J, Michels V, Miles T. No apparent impact of meal glycemic index on postprandial lipid response in lean and abdominally obese women. *Open Nutr J*. 2012;6(1):97-103. <http://dx.doi.org/10.2174/1874288201206010097>
16. Singh AK, Singh R. Triglyceride and cardiovascular risk: A critical appraisal. *Indian J Endocrinol Metab*. 2016;20(4):418-28. <http://dx.doi.org/10.4103/2230-8210.183460>
17. Manochehri M, Moghadam AJ. Studying the Relation of Postprandial Triglyceride with Coronary Artery Disease (CAD). *Med Arch*. 2016;70(4): 261-4. <http://dx.doi.org/10.5455/medarh.2016.70.261-264>
18. Nogaroto V, Rodrigues MRS, Vicari MR, De Almeida MC, Milléo FQ, Dos Santos FA, *et al.* High postprandial triglycerides serum levels: is obesity a good predictor? *An Acad Bras Ciênc*. 2015;87(1):437-45. <http://dx.doi.org/10.1590/00013765201520130380>
19. Almeda P, Cuevas D, Mehta R, Muñoz L, Cruz I, Perez O, *et al.* Factors associated with postprandial lipemia and apolipoprotein A-V levels in individuals with familial combined hiperlipidemia. *BMC Endocr Disord*. 2014;14:90. <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6823-14-90>
20. Miglio C, Villan DV, Toti E, Peluso I, Raguzzini A, Cesqui E, *et al.* Antioxidant and inflammatory response following high-fat meal consumption in overweight subjects. *Eur J Nutr*. 2013;52:1107-14. <http://dx.doi.org/10.1007/s00394-012-0420-7>
21. Den Hartigh LJ, Altman R, Norman JE, Rutledge JC. Postprandial VLDL lipolysis products increase monocyte adhesion and lipid droplet formation via activation of ERK2 and NFκB. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2014;306(1): H109-20. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.00137.2013>
22. Ghoshal S, Witta J, Zhong J, de Villiers W, Eckhardt E. Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. *J. Lipid Res* 2009; 50(1):90-97. <http://dx.doi.org/10.1194/jlr.M800156-JLR200>
23. Vors C, Pineau G, Draï J, Meugnier E, Pesenti S, Laville M, *et al.* Postprandial endotoxemia linked with chylomicrons and LPS handling in obese vs lean men: a lipid dose effect trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(9):3427-35. <http://dx.doi.org/10.1210/JC.2015-2518>
24. Wang YI, Schulze J, Raymond N, Tomita T, Tam K, Simon SI, Passerini AG. Endothelial inflammation correlates with subject triglycerides and waist size after a

- high-fat meal. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;300(3):H784-91. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.01036>
25. Wagmacker D, Petto J, Leichsenring F, Nery AC, Teixeira AM. C-reactive protein in the initial phase of postprandial lipemia in subjects with central obesity. *Int J Cardiovasc Sci*. 2015;28(1):9-15. <http://dx.doi.org/10.5935/2359-4802.20150003>
 26. Gregersen S, Samocha D, Heilbronn LK, Campbell LV. Inflammatory and oxidative stress responses to high-carbohydrate and high-fat meals in healthy humans. *J Nutr Metab*. 2012. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/238056>
 27. Herieka M, Erridge C. High-fat meal induced postprandial inflammation. *Mol Nutr Food Res*. 2014;58(1):136-46. <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201300104>
 28. Haack M, Kraus T, Schuld A, Dalal M, Koethe D, Pollmacher T. Diurnal variations of interleukin-6 plasma levels are confounded by blood drawing procedures. *Psychoneuroendocrinology*. 2002;27(8):921-31. [http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4530\(02\)00006-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4530(02)00006-9)
 29. Tholstrup T, Teng K, Raff M. Dietary cocoa butter or refined olive oil does not alter postprandial hsCRP and IL-6 concentrations in healthy women. *Lipids*. 2011;46(4):365-70. <http://dx.doi.org/10.1007/s11745-011-3526-4>
 30. Ghanim H, Sia CL, Upadhyay M, Korzeniewski K, Viswanathan P, Abuaysheh S, *et al*. Orange juice neutralizes the proinflammatory effect of a high-fat, high-carbohydrate meal and prevents endotoxin increase and Toll-like receptor expression. *Am J Clin Nutr*. 2010;91(4):940–9. <http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.2009.28584>
 31. Zaman GF, Zaman F, Raul MG. Comparison of postprandial endotoxemia in male adolescent and male subjects above 50 years after a fat overload. *Int J Curr Res Aca Rev*. 2014;2(8):167-74.
 32. Luck H, Tsai S, Chung J, Clemente X, Ghazarian M, Revelo XS, *et al*. Regulation of obesity-related insulin resistance with gut anti-inflammatory agents. *Cell Metabolism*. 2015;21(4):527-42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2015.03.001>
 33. Laugerette F, Alligier M, Bastard JP, Draï J, Chanseaneume E, Lambert S, *et al*. Overfeeding increases postprandial endotoxemia in men: Inflammatory outcome may depend on LPS transporters LBP and sCD14. *Mol Nutr Food Res*. 2014;58(7):1513-8. <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201400044>
 34. Boutagy NE, McMillan RP, Frisard MI, Hulver MW. Metabolic endotoxemia with obesity: Is it real and is it relevant? *Biochimie*. 2016;124:11-20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2015.06.020>

4.3 CAPÍTULO 3. Efectos postprandiales de la complementación con aceite de Sacha inchi (HFM+S)

4.3.1 Efectos de HFM+S sobre el metabolismo postprandial de glúcidos. (N=42)

La hiperglucemia postprandial ha mostrado ser mejor predictor de enfermedad cardiovascular que los niveles de ayuno [142]. Su aumento durante esta etapa depende del tipo de ingesta, y la evidencia parece indicar que el consumo de ácidos grasos poliinsaturados de la serie 3 contribuye a disminuir la insulinoresistencia y la inflamación en modelos animales [143]

Los beneficios ligados con el consumo de PUFA de la serie ω -3 y sus efectos favorables sobre el control glucémico han promovido su inclusión en las dietas en reemplazo de ácidos grasos saturados [36] para prevenir los trastornos agudos asociados a la insulinoresistencia [78,85], y también se ha sugerido su utilización en forma de complemento nutricional que busca facilitar la adherencia al proveer un cambio dietario poco complejo [144].

Sin embargo, a la fecha, la mayor parte de la literatura proviene de estudios con dos representantes de esta serie, el EPA y el DHA, provenientes de fuentes marinas y sumado a ellos, los resultados en humanos han mostrado ser inconsistentes [145-147].

El aceite obtenido de las semillas de Sacha inchi es una atractiva fuente vegetal de PUFA, con elevado contenido de ALA (ω -3) y LA (ω -6), y aunque se considera que su tasa de conversión a EPA y DHA es baja [148] no se descarta que puedan actuar de manera autónoma [149].

Como se observa en las figuras 22 y 23, el agregado del aceite de Sacha inchi aumentó la concentración de glucemia a las 4 horas, sin modificar la respuesta de glucemia observada a la primera hora post HFM ni los niveles de insulina entre ambas ingestas.

Este hallazgo resulta coherente con el incremento de insulinoresistencia, asociado con la ingesta del aceite, reportado previamente tras su consumo sostenido durante 4 meses [14,15], y muestra una respuesta postprandial a HFM+S muy similar a lo que se había hallado con HFM, con elevada variabilidad especialmente en los resultados obtenidos en la primera hora, razón por la cual se continuó el análisis estratificando el grupo de acuerdo con la presencia de obesidad.

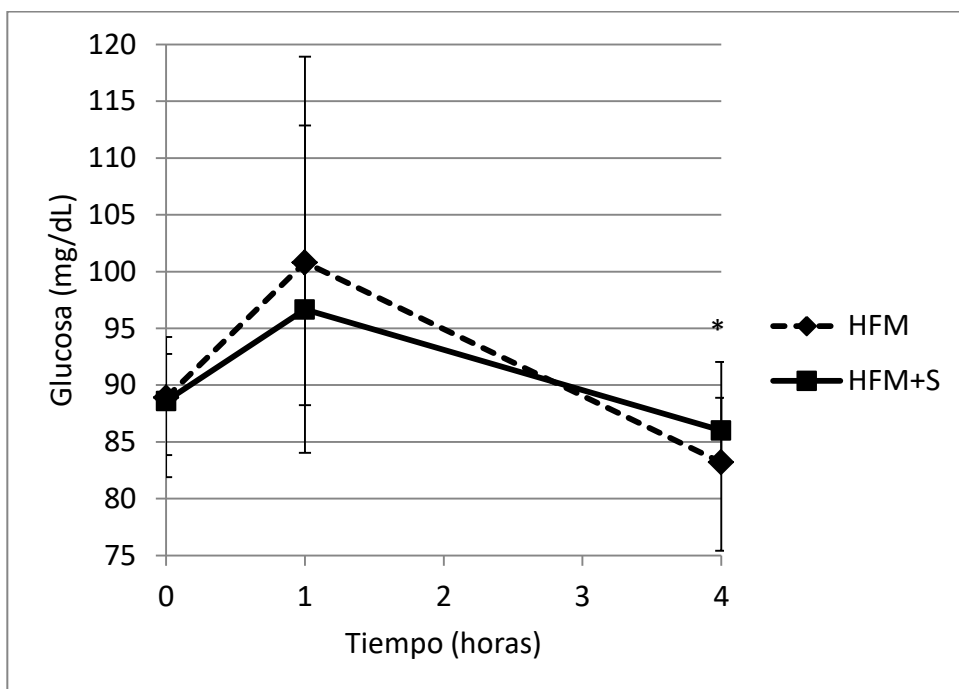


Figura 22. Concentraciones de glucosa en suero con ambos tratamientos (n=42). La marca * indica diferencia significativa entre tratamientos (* $p<0.05$)

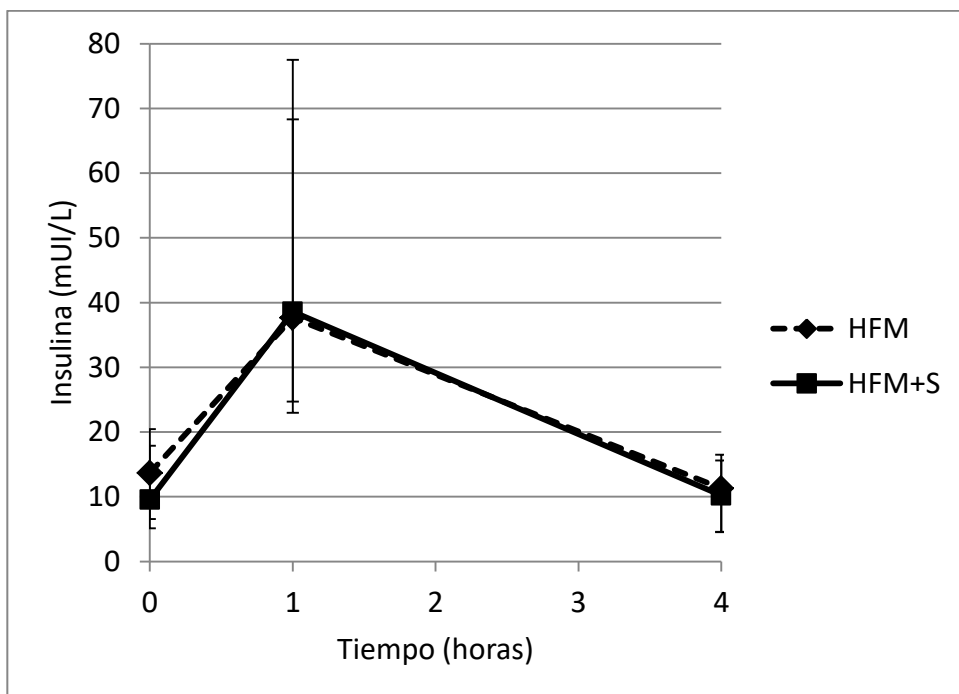


Figura 23. Concentraciones de insulina en suero con ambos tratamientos (n=42).

4.3.1.1 Relación entre los efectos de HFM+S sobre el metabolismo postprandial de glúcidos y la presencia de obesidad abdominal.

Como se mostró en la tabla 18, una vez estratificados, el grupo con obesidad abdominal (NO/n=21) mostró mayor valor para el índice HOMA-IR y menor ISI_0 respecto al grupo n de no obesos (O/n=21) ($p= 0.004$ y 0.003 , respectivamente) confirmando la relación entre la presencia de obesidad e insulinoresistencia [36,63,150].

No se observaron diferencias al comparar los indicadores en ayunas antes de cada una de las intervenciones, en ninguno de los grupos, como puede observarse en la figura 24.

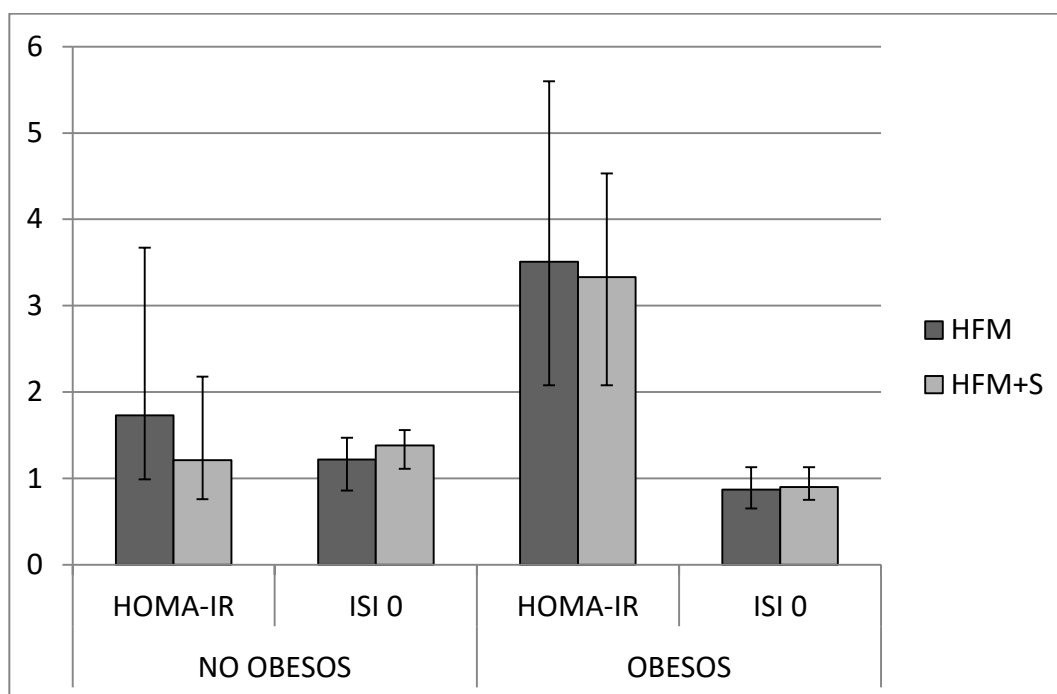


Figura 24. Índices de insulinoresistencia en ayunas, previo a ambos tratamientos, discriminados de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal (NO/n=21; O/n=21).

Los efectos postprandiales fueron evaluados mediante el cálculo de los incrementos bajo la curva para cada analito medido. Como puede observarse en la figura 25, el agregado del aceite potenció los aumentos de glucosa e insulina en presencia de obesidad abdominal, lo que podría corresponder a insuficiente reserva metabólica en este grupo como para hacer frente a ambas intervenciones.

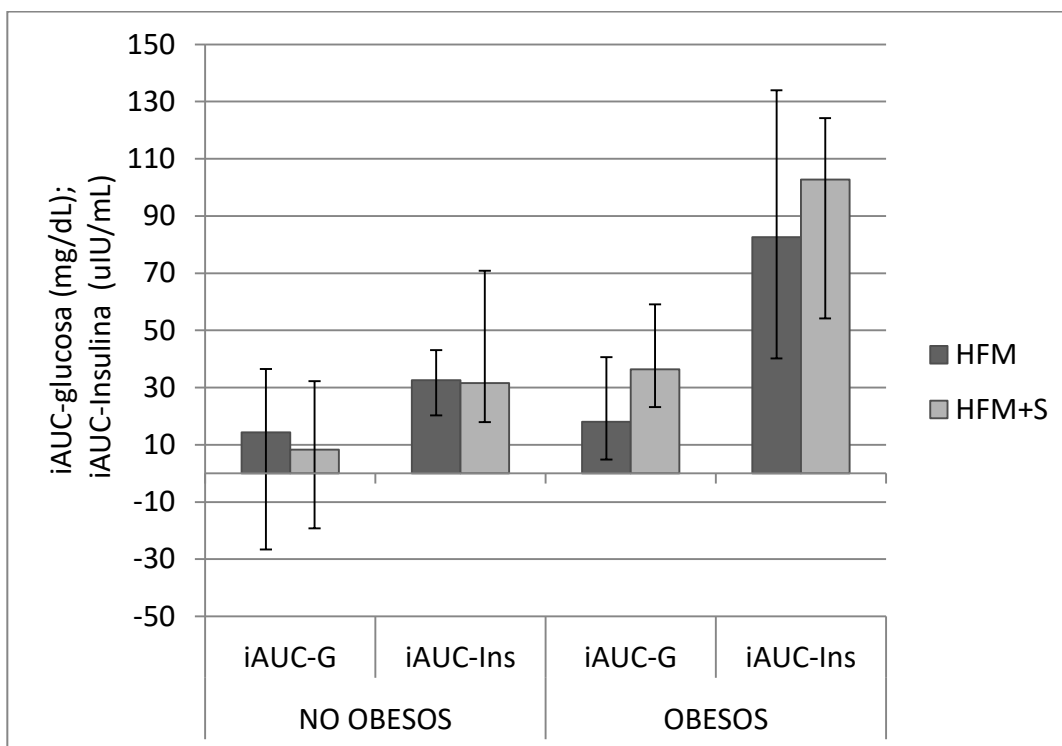


Figura 25. Efecto de ambos tratamientos sobre el incremento del área bajo la curva para glucosa e insulina, discriminados de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal.

El análisis de la figura 25, permite poner en evidencia dos importantes eventos:

1. existe elevada similitud entre los efectos producidos con ambos alimentos, es decir el agregado del aceite no parece modificar en gran medida la respuesta metabólica glucémica.
2. obesos y no obesos responden de manera diferente ante la ingesta de ambos desayunos, es decir, la presencia de obesidad condiciona en gran medida el tipo de respuesta a ambas ingestas

En efecto, el grupo con obesidad, que había mostrado mayores índices de resistencia a insulina en ayunas, responde con mayores incrementos para glucosa e insulina, lo que es fácilmente observable en la figura 26, que muestra la función pancreática de secreción de insulina en respuesta a la ingesta, en la primera hora (IGI_{1h}) y en el total de las 4 de horas de seguimiento (IGI_{4h}).

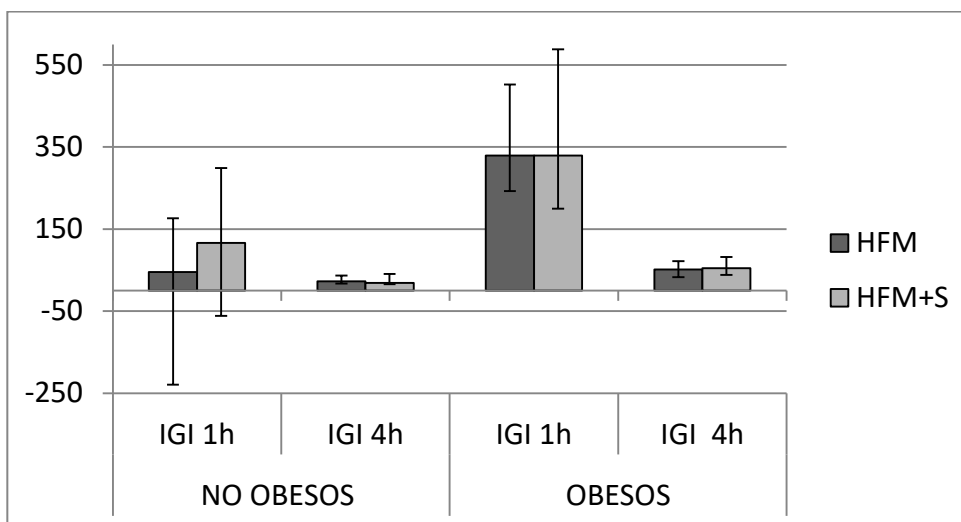


Figura 26. Efectos de ambos tratamientos sobre los estimadores de función pancreática postprandial, de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal.

Este comportamiento generó índices de sensibilidad de HFM+S respecto a HFM, similares al comparar los grupos NO OBESOS con OBESOS, tal como lo muestra la Tabla 22.

Tabla 22 Índice de sensibilidad a insulina post HFM+S respecto a HFM, de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal.

	NO OBESOS			OBESOS			p
	25	50	75	25	50	75	
ISI HFM+S respecto a HFM	0.64	1.14	1.35	0.73	0.93	1.13	0.458

Tomando en consideración que este índice toma el valor unitario cuando el efecto sobre la sensibilidad de ambas intervenciones es idéntico, un valor levemente superior, como el observado en el grupo de delgados, indicaría un mayor efecto sobre sensibilidad a insulina en este grupo, el cual sin embargo no alcanza significancia estadística, posiblemente debido a la elevada variabilidad de las respuestas obtenidas en ambos grupos.

Esto motivó a analizar con mayor detenimiento el efecto de la complementación con aceite de Sacha inchi sobre las respuestas glucémicas, lo que permitió poner en evidencias respuestas antagónicas, es decir, mientras algunos individuos respondían al agregado de aceite con aumento en los niveles de glucosa, el resto respondían en forma inversa.

Ese comportamiento es fácilmente observable en los histogramas de frecuencia que muestran la magnitud de la diferencia entre los efectos de ambas

intervenciones sobre el incremento del área bajo la curva para glucosa ($iAUC_{\text{post HFM+S}} - iAUC_{\text{post HFM}}$) respecto a la presencia de obesidad, tanto del grupo completo (Fig. 27) como discriminados en NO OBESOS (Fig. 28) y OBESOS (Fig. 29).

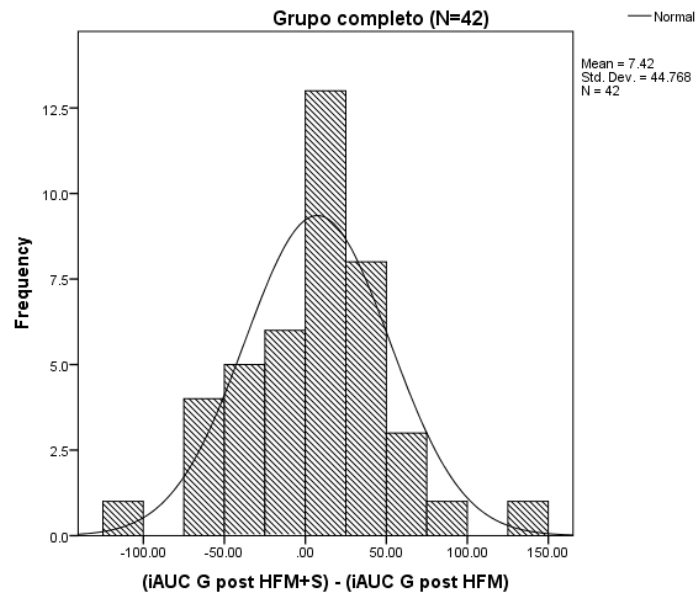


Figura 27. Distribución de la diferencia entre los incrementos de las áreas bajo las curvas de glucosa con ambos tratamientos, en el grupo completo (n=42).

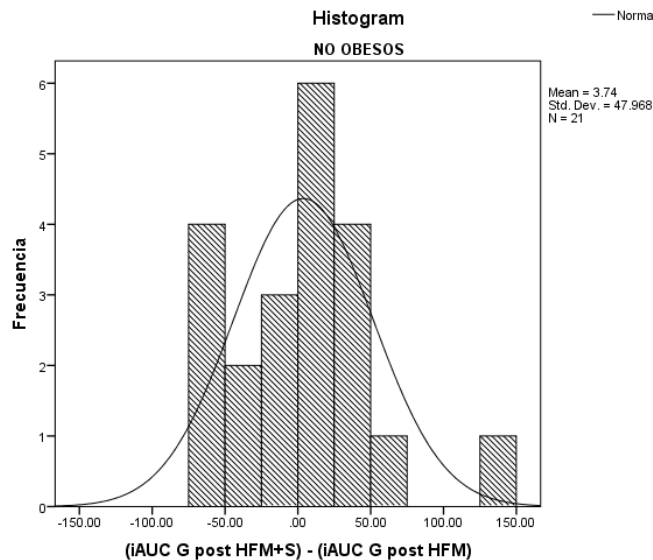


Figura 28. Distribución de la diferencia entre los incrementos de las áreas bajo las curvas de glucosa con ambos tratamientos, en el grupo sin obesidad abdominal (n=21).

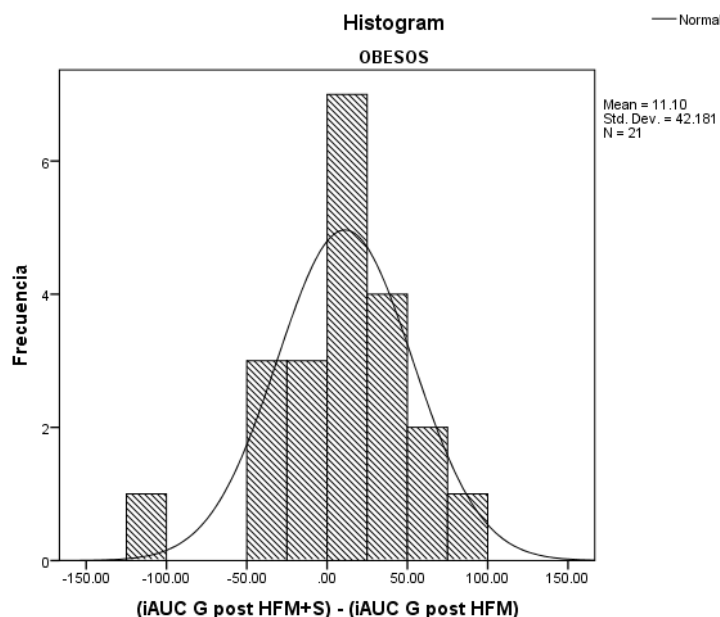


Figura 29. Distribución de la diferencia entre los incrementos de las áreas bajo las curvas de glucosa con ambos tratamientos, en el grupo con obesidad abdominal (n=21).

Los histogramas de frecuencia permiten evidenciar que, en el grupo completo o estratificado, los resultados se distribuyen en forma de campana de Gauss, con una media de las diferencias cercana a 0, ello implica que, el agregado del aceite produjo respuestas antagónicas. Es decir, mientras en algunos de los participantes el consumo de HFM+S atenuó el aumento de la glucemia observada tras el consumo de HFM, lo que produce una diferencia menor que cero en la gráfica, en el resto de ellos la respuesta a la complementación tuvo el efecto inverso, es decir potenció el aumento que se había producido tras HFM.

Por esta razón, de acuerdo con el efecto del agregado del aceite de Sacha inchi sobre el iAUC de la glucosa respecto al efecto obtenido con HFM, los grupos se denominaron grupo de hiperglucemia atenuada (AHG/n=16) o grupo de hiperglucemia elevada (EHG/n=26).

4.3.1.2 Caracterización de los sujetos de acuerdo con la respuesta glucémica a HFM+S.

En este artículo se analizó qué características de los participantes podrían estar relacionadas con las diferencias en las respuestas glucémicas postprandiales, derivadas tanto de la ingesta del desayuno rico en grasas (HFM), solo o

complementado con aceite de Sacha inchi (HFM+S), y si estos efectos guardaban relación con la expresión de SIRT-1.

- **Carbohydrate metabolism and gene expression of sirtuin 1 in healthy subjects after Sacha inchi oil supplementation: A randomized trial. (publicado Food & Function, 2018. DOI:10.1039/C7FO01956D)**

A. N. Alayon,^{a*} J. G. Ortega Avila^b and I. Echeverri Jimenez^c

Abstract

Background: The postprandial stage is related to cardiovascular risk and it depends on the type of meal consumed. We study the effects of Sacha inchi oil on the postprandial glycemic state caused by meals rich in fat. **Methods and Results:** A double blind randomized trial in which 42 adult men ingested two breakfasts rich in fat, one of them containing additionally 15 mL of Sacha inchi oil. Blood samples were taken before or after 1 and 4 hours post-ingestion to quantify glucose, insulin and lipid profile in serum. The insulinogenic and sensitivity indices were calculated and the expression of sirtuin-1 in circulating mononuclear cells by qPCR was determined. **Results:** Oil addition attenuated the increase of glucose in 16 (38.1%) participants. This group showed a higher concentration of fasting triacylglycerides (1.66 mmol/L, IQR: 1.13 to 2.18) than the other participants (1.26 mmol/L, IQR: 0.72 to 1.74; $p=0.042$) and sirtuin-1 expression at 4 hours post Sacha correlated with glucose at the same time ($r = -0.724$; $p=0.012$), and with postprandial insulin sensitivity ($r = 0.636$; $p=0.035$). **Conclusions:** The addition of Sacha inchi oil to a highly fatty meal improves insulin sensitivity in people with higher basal triglyceridemia and higher glycemic responses after a fat load. Under these conditions, sirtuin-1 expression correlates with postprandial insulin sensitivity.

Keywords: sirtuin 1; insulin resistance; postprandial period; fatty acids, unsaturated.

The intake of a meal rich in fat promotes a postprandial state characterized by the increase of glucose, insulin and triacylglycerides, to varying degrees depending on the composition of the meal and the degree of resistance to insulin (IR) of subject.^{1,2}

The polyunsaturated fatty acids (PUFAs) of the ω -3 series have been shown to prevent IR^{3,4}. Therefore, their use has been promoted in replacement of saturated fatty acids (SFA) as an option to facilitate adherence to dietary change.^{5,6}

Among the proposed mediators of the response to PUFA intake, the histone deacetylase protein Sirtuin 1 (SIRT-1) has shown direct and indirect effects on IR and the development of diabetes mellitus type 2. Expression of SIRT-1 seems to be regulated by the intake of glucose and SFA.⁷⁻⁹

SIRT-1 is a NAD⁺ dependent deacetylase that acts on gene expression and metabolic activity in response to the cellular energy state. It plays an important role in glucose metabolism and improves glucose homeostasis. Its expression is lower in the presence of obesity and insulin resistance.^{10,11}

Linolenic and linoleic acids are synthesized by plants but not humans. For this reason, they should be provided from external sources. *Plukenetia volubilis*, also known as Sacha inchi, Sacha peanut or Inca peanut is native of tropical South America, now also being cultivated commercially in other countries. The seeds of Sacha inchi are an attractive vegetable oil source with a high content of ALA and LA, polyphenols and antioxidants^{12,13} and its consumption could improve the postprandial metabolic responses of high fat intake.

Humans can transform ALA to EPA and DHA by a series of desaturase and elongase enzymes.¹⁴ Studies in humans¹⁵ and in animals^{16,17} have demonstrated that ω -3 fatty acids from Sacha inchi oil can be converted into DHA in the liver and brain and could increase its level when supplied in the diet. Nevertheless, ALA may also act by itself.¹⁸

In addition, some studies have evaluated Sacha inchi oil (SIO) effects on lipid and carbohydrate metabolism¹⁹⁻²³, but the effects when used as complement of a high fat meal, have not been explored yet.

Therefore, our objective in this study was to investigate the metabolic effects of Sacha inchi oil (SIO) addition (to a breakfast rich in fat) on postprandial carbohydrate metabolism and the expression of SIRT-1 in peripheral blood mononuclear cells (PBMC).

Materials and Methods

Subject selection

The sample was selected from the list of employees in a university institution, and the subjects were summoned through visits to work sites. Based on a preliminary interview, 143 male subjects were pre-selected. Only men were studied to factor our hormonal influence. These participants were 29 to 64 years of age non-

smokers who engaged in little physical activity. Randomization was done twice by the SPSS software.

First, we used a random number table to choose 42 male subjects satisfying our exclusion criteria for a second interview. The following exclusion criteria were evaluated during the sampling: 1) Diagnosis of diabetes mellitus or dyslipidemia, 2) intake of medication or vitamins, 3) diet or weight modification in the last two months, 4) contraindication to fat intake or wheat flour. A total of 56 subjects were interviewed, 13 were ruled out based on the exclusion criteria indicated and 1 who did not agree to participate in the study. A second randomization step was introduced to decide the order in which the participants would receive both interventions.

All participants received information about the project and signed the informed consent form. The study protocol was approved by the ethics committees of the ICESI-Cali University and San Buenaventura University-Cartagena, Colombia, and it was performed in accordance to the ethical standard established in the Declaration of Helsinki. Registration: clinicaltrials.gov identifier: NCT02886169.

Design

A randomized cross-over blind trial, (patients and the lab technician), was conducted to compare the effects of two different breakfasts. Both were designed with similar taste, smell, and consistency characteristics. One of them referred to as high fat meal (HFM) included 100 g of buttered bread and sweetened coffee [874 cal, 59% came from fat (SFA 32%, MUFA 23%, PUFA 4%), 37% from carbohydrates, and 4% proteins]. The other referred to as HFM+S, also included 15 mL of commercial SIO [998 cal, 65% from fat (SFA 30%, MUFA 20%, PUFA 15%)]. Participants were randomly assigned to a sequence of two test meals on two separate days with a 2-week washout period, half receiving HFM and half HFM+S. The participants were instructed to minimize changes in their diet and physical activity during the test period and not to drink alcohol the day after each intervention.

After overnight fast (12 hours), participants reported to the laboratory at 7:00 am and a basal venous blood sample was taken by venipuncture. At time 0 the meal was consumed (within 15 min) and blood samples were then taken at 1 and 4 h after they finished the meal. Participants were allowed to drink water but no other beverages and food, and they remained seated during the study.

After the biochemical analysis of the samples, and according to the glycemic response to the intakes, the subjects were classified into two groups. When the glucose iAUC after HFM+S was higher than the value obtained after HFM, this group was named enhanced hyperglycemic group (EHG). In the opposite case, they formed the attenuated hyperglycemic group (AHG) (Fig. 30).

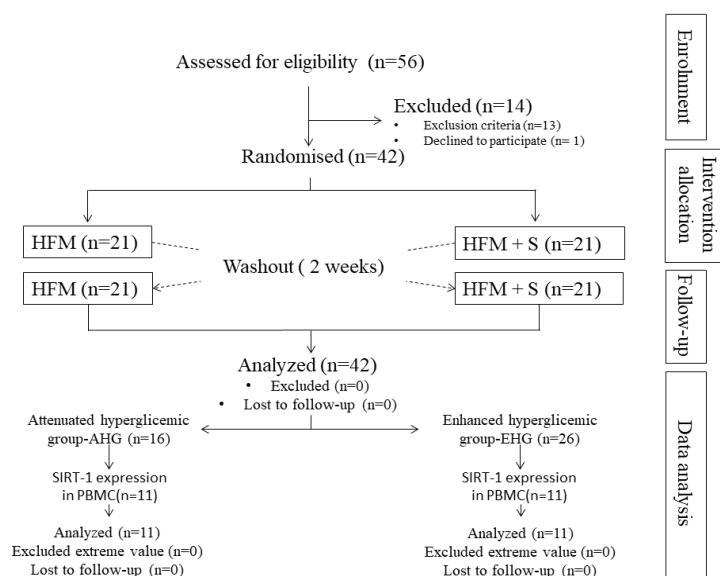


Fig. 1 CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) diagram showing the flow of participants through each stage of the trial.

Figura 30. CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) diagram showing the flow of participants through each stage of the trial.

Sample processing

Blood samples were centrifuged 10 min at 2500 rpm at 4 ° C and the separated sera were stored at -20°C until use. Glucose and triacylglycerides were measured by spectrophotometric enzymatic methods using commercial kits. Insulin was measured by enzyme immunoassay (Insulin-AccuBind).

Metabolic index

The homeostasis assessment model for insulin resistance (HOMA-IR) was calculated by the method described by Mathews, 1995.²⁴ The area under the curve (AUC) of three points was calculated by the trapezoidal method and the net incremental area (iAUC) by subtracting the basal values at each postprandial value.^{25,26}

The function of the pancreatic beta cell was estimated in the first phase of secretion by the insulinogenic index (IGI) [$IGI = (Ins_0 - Ins_1) / (G_0 - G_1)$, where subscripts 0 and 1 correspond to fasting and 1 hour, respectively] and, in the postprandial phase, from the ratio of areas under the curve of insulin and glucose ($AUC_{Insulin} / AUC_{Glucose}$). The fasting insulin sensitivity index [$ISI_0 = 2 / (Insulin_{0/n} \times Glucose_{0/n}) + 1$] was calculated, where the subscripts 0/n mean the respective fasting value divided by the normal average value, for glucose = 4.7 mmol/L and for insuline = 2.3 mIU/L, so the index is 1 under normal conditions. The postprandial sensitivity index was calculated as $ISI_{pp} = 2 / (AUC_{Glucose-HFM} + S / AUC_{Glucose-HFM} \times AUC_{Insulin-HFM} + S / AUC_{Insulin-HFM} + 1)$ ²⁷. The index is greater than 1 when the oil addition improves the sensitivity to HFM and less than 1 on the converse case.

Gene Expression Analysis

PBMCs were isolated from 22 participants, randomly selected (11 from AHG and 11 from EHG), using density gradient (Polymorphprep-Axis Shield) and stored in RNeasy lysis buffer (Qiagen) at -70 ° C until processing. RNeasy Mini Kit (Qiagen) and Super Script IV Reverse Transcriptase (Thermo Fisher Scientific); 100 ng/reaction were used for the extraction of RNA and its retrotranscription. Expression of SIRT-1 was measured on a 7500 Fast (Applied Biosystems) with GAPDH as the reference gene, by triplicate. SYBER Green kit was used for gene expression. The primers were: SIRT-1 forward: 5'GCTCGCCTTGCTGTAGACTT3' and reverse: 5'TGTGACAGAGAGATGGCTGG3'²⁸, GAPDH forward 5'TGCACCACCAACTGCTTAGC3', reverse 5'GGCATGGACTGTGGTCATGAG3'. The relative mRNA level for each transcript was calculated by the DDcycle threshold (Ct) method DDCT was calculated as DCt at 4 h post-intake minus DCt at baseline. The fold change in mRNA expression was calculated as 2-DDCT.

Statistical analysis

The sample size (n = 42) was estimated considering a minimum difference of triacylglycerides (TAG) between interventions of 0.55 mmol/L, a standard deviation (SD) of 0.90 mmol/L, a power of 80%^{19,21} and an additional 15% for possible defects. Data were expressed as mean \pm SD for variables with normal distribution and as median and interquartile range (IQR) in the contrary case. A post hoc analysis was done by comparisons between groups which showed different SIO effects on glucose levels, to describe and compare the main characteristics of both groups (more details are in Design).

The area under the curve (AUC) was calculated by the trapezoidal method and the net incremental area (iAUC) by subtracting the basal values at each postprandial value. The Shapiro Wilk test was applied to evaluate normality and Levene test for equality of variances. Student's t-test or Mann Whitney U test were used for comparisons between the groups, and the Student's t-test for paired data or the Wilcoxon signed-rank test were used for comparisons between the groups. Correlations were expressed with Spearman's Rho coefficient. The analysis was performed using the SPSS statistical package (Version 21.0, SPSS Inc., Chicago, IL).

Results

The age of the 42 participants was 40.0 ± 8.9 years, their body mass index 26.6 ± 4.8 kg / m² and the waist circumference 4.1 ± 12.0 cm, without significant variations during the study time (data not shown).

In the whole group, the serum glucose at 4 hours was higher after the consumption of HFM+S (4.77 mmol/L, IQR: 4.59 to 5.11), compared to HFM (4.62 mmol/L, IQR: 4.18 to 4.93; $p = 0.017$). No significant differences were found in fasting and 1 hour samples for glucose and insulin. The lipid levels were always similar with both treatments (Table 23).

Tabla 23 Baseline and postprandial biomarkers data of all subjects with and without Sacha inchi oil (n=42).

Biomarker or postprandial index	Time (hours)	HFM	HFM+S	p-value
		Median (25th/75th)	Median (25th/75th)	
Glucose (mmol/L)	0	4.93 (4.65/5.15)	4.92 (4.55/5.23)	0.698
	1	5.59 (4.66/6.26)	5.36 (4.90/6.60)	0.666
	4	4.62 (4.18/4.93)	4.77 (4.59/5.11)	0.017
Insulin (uUI/L)	0	13.68 (6.55/20.45))	9.55 (5.15/17.88)	0.207
	1	37.65 (24.70/68.33)	38.6 (23.00/77.50)	0.520
	4	11.3 (4.58/16.48)	10.20 (4.53/15.63)	0.827
TC (mmol/L)	0	4.21 (3.78/4.85)	4.43 (3.96/5.05)	0.094
	1	4.42 (3.73/5.01)	4.52 (4.01/5.08)	0.075
	4	4.39 (3.92/5.09)	4.45 (3.89/4.99)	0.308
HDL-C (mmol/L)	0	1.23 (1.07/1.41)	1.22 (1.07/1.39)	0.605
	1	1.24(1.11/1.42)	1.22 (1.08/1.45)	0.388
	4	1.22 (1.13/1.42)	1.22 (1.10/1.44)	0.871
TAG (mmol/L)	0	1.37 (0.85/1.85)	1.10 (0.84/2.01)	0.392
	1	1.74 (1.13/2.37)	1.53 (1.25/2.10)	0.524
	4	2.15 (1.30/2.88)	1.87 (1.34/3.14)	0.886
ISI ₀	0	0.98 (0.73/1.34)	1.11 (0.87/1.40)	0.163

IGI (pmol/mmol)	1	218.62 (- 17.71/365.92)	453.66 (16.84/941.73)	0.449
AUC-Ins / AUC- G (pmol/mmol)	4	33.02 (21.45/56.33)	38.07 (18.67/62.82)	0.218

TC: total cholesterol; HDL-C: high density cholesterol fraction; TAG: triacylglycerides; ISI0: index of basal insulin sensitivity; IGI: insulinogenic index; HFM: high fat meal; HFM+S: high fat meal with Sacha inchi oil; AHG: Attenuated Hyperglycemia Group; EHG: Enhanced Hyperglycemic Group.

However, in 16 (38.1%) of the 42 participants the SIO addition decreased the iAUC_G, conforming the Attenuated Hyperglycemic Group (AHG).

In the remaining subjects (61.9%) the oil increased the glycemic response being grouped as Enhanced Hyperglycemic Group (EHG) (Fig. 31 and 32).

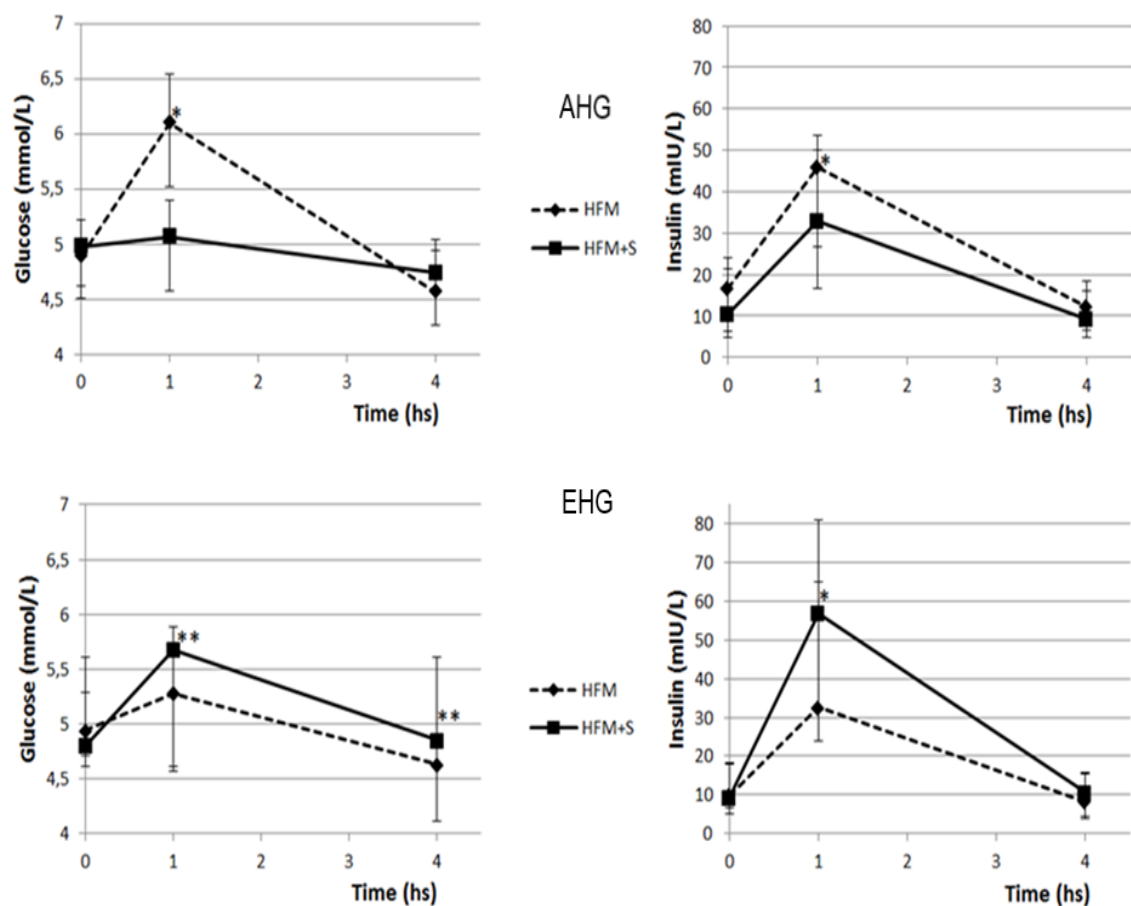


Figura 31. Serum glucose and insulin concentrations during the study.

Values after HFM intake in dotted line and after HFM+S in continuous line. AHG (n=16) and EHG (n=26) indicate subgroups. AHG: Attenuated Hyperglycemia Group; EHG: Enhanced Hyperglycemic Group; HFM: high fat meal; HFM + S: high fat meal with Sacha inchi oil; hs: hours. Las marcas * indican diferencias significativas entre tratamiento (* p< 0.05; **p<0.01)

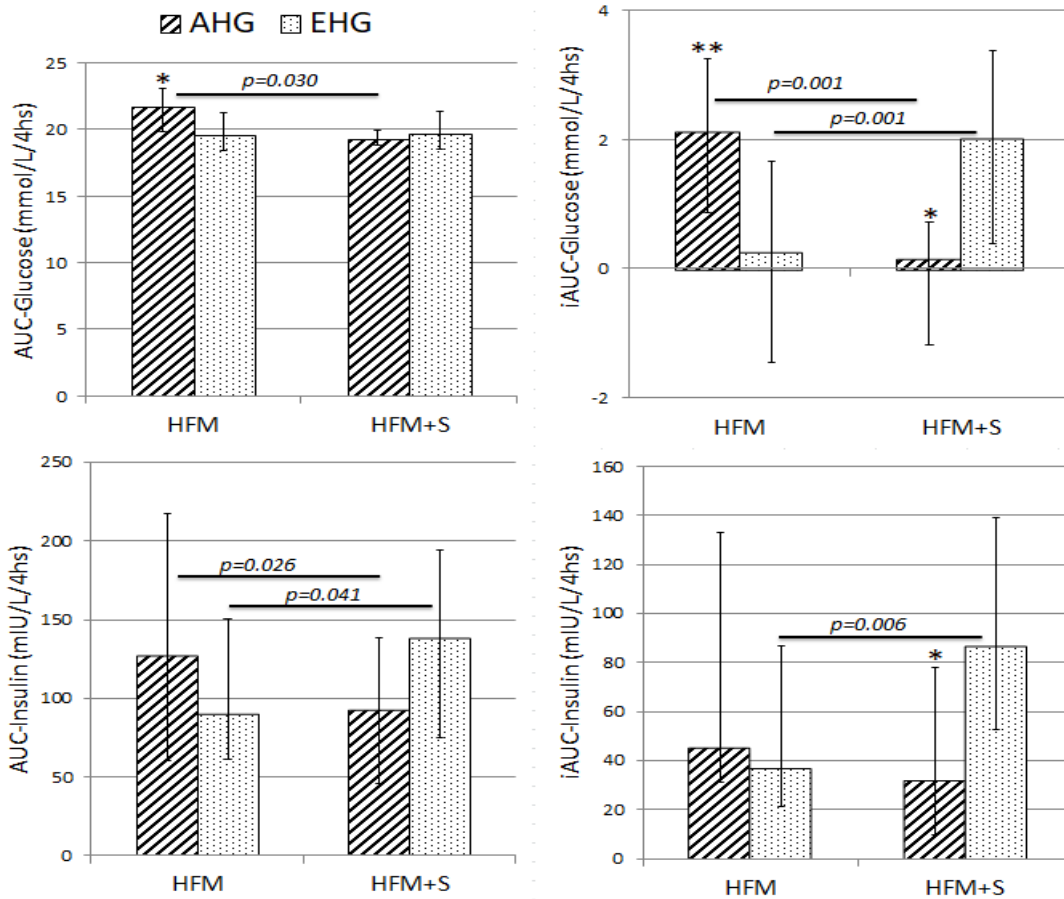


Figure 32. Effects on AHG and EHG groups of HFM and HFM + S intake expressed as AUC and iAUC of glucose and insulin.

Asterisks indicate significant differences between AHG and EHG (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$), horizontal lines mark differences between HFM and HFM + S, for each group. The bars indicate median values and vertical lines interquartile ranges. AUC: area under the curve; AHG: Attenuated hyperglycemic group; EHG: Enhanced hyperglycemic group; HFM: high fat meal; HFM + S: high fat meal with Sacha inchi oil; hs: hours.

Subgroups were similar in age (AHG: 40.6 ± 9.2 ; EHG: 39.7 ± 8.9 years), body mass index (AHG: 27.2 ± 5.4 ; EHG: 26.2 ± 4.5 kg / m²) and waist circumference (AHG: 96.4 ± 12.6 ; EHG: 92.7 ± 11.6 cm, $p = 0.749$, 0.480 and 0.344 , respectively).

AHG showed a tendency to unhealthy values. The fasting and postprandial results for each group are shown in Table 24.

Tabla 24 Baseline and postprandial lipid concentrations after stratification.

		AHG (n=16)			EHG (n=26)				
		HFM	HFM+S		HFM	HFM+S		HFM	HFM+S
Biomarker (mmol/L)	Time (hours)	Median (25th/75th)	Median (25th/75th)	p-value (HFM vs HFM+S)	Median (25th/75th)	Median (25th/75th)	p-value (HFM vs HFM+S)	P-value (AHG vs EHG)	p-value (AHG vs EHG)
TC	0	4.49 (3.99/5.32)	4.58 (4.29/5.16)	0.959	4.11 (3.67/4.59)	4.21 (3.76/5.04)	0.057	0.087	0.178
	1	4.47 (4.07/5.42)	4.58 (4.20/5.02)	0.836	4.33 (3.67/4.85)	4.39 (3.89/5.15)	0.05	0.306	0.501
	4	4.72 (4.11/5.45)	4.54 (4.30/5.25)	0.796	4.31 (3.64/4.81)	4.4 (3.66/4.86)	0.033	0.133	0.312
HDL-C	0	1.21 (1.20/1.45)	1.29 (1.02/1.49)	0.897	1.25 (1.10/1.40)	1.2 (1.11/1.35)	0.475	0.717	0.476
	1	1.21 (1.09/1.43)	1.31 (1.02/1.50)	0.897	1.24 (1.15/1.40)	1.21 (1.08/1.33)	0.341	0.907	0.669
	4	1.16 (1.07/1.59)	1.21 (1.03/1.45)	0.485	1.23 (1.15/1.40)	1.24 (1.13/1.44)	0.741	0.586	0.660
TAG	0	1.62 (1.29/2.11)	1.39 (0.88/2.47)	0.66	1.19 (0.75/1.80)	1.05 (0.81/1.1)	0.609	0.043	0.017
	1	1.84 (1.47/2.46)	1.65 (1.33/2.90)	0.535	1.57 (1.02/2.33)	1.47 (1.17/1.88)	0.78	0.123	0.200
	4	2.41 (1.97/3.40)	2.16 (1.54/3.62)	0.408	1.72 (0.97/2.58)	1.69 (1.31/2.58)	0.517	0.029	0.140

TC: total cholesterol; HDL-C: high density cholesterol fraction; TAG: triacylglycerides; HFM: high fat meal; HFM+S: high fat meal with Sacha inchi oil; AHG: Attenuated Hyperglycemia Group; EHG: Enhanced Hyperglycemic Group.

The effects of SIO addition on lipid profile were similar between groups, with a tendency to a higher increase of TAG in the AHG group, as are shown in figure 33.

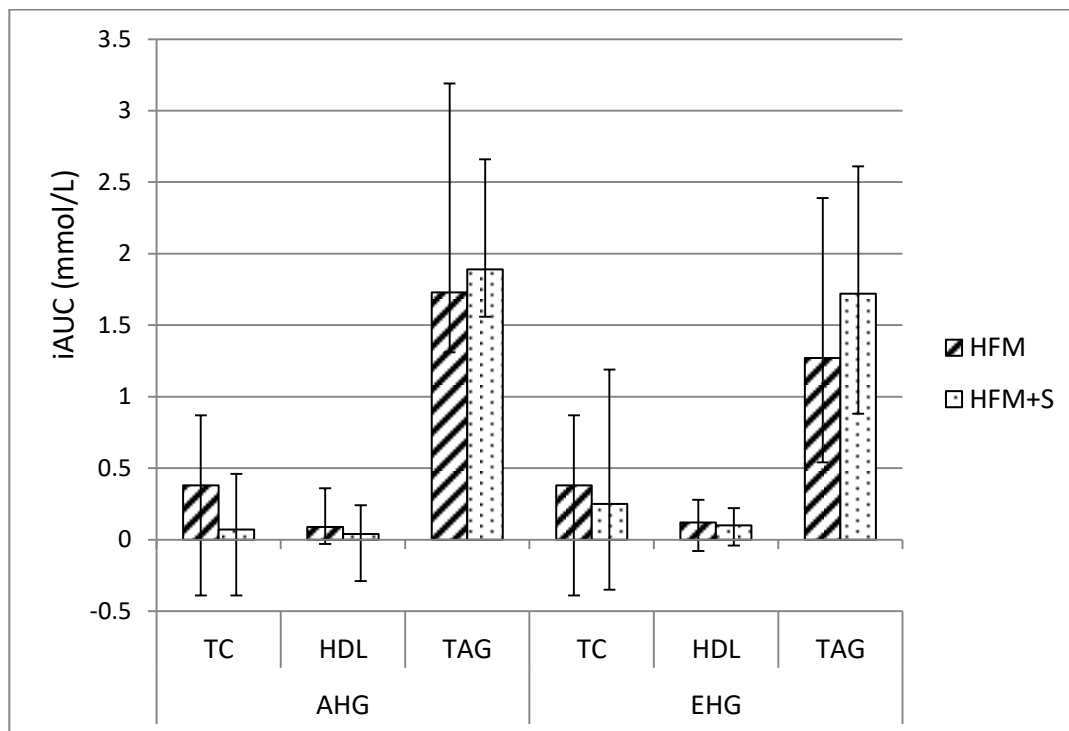


Figura 33. Effects of both treatments on lipid profile, in the AHG and EHG groups.

TC: total cholesterol; HDL-C: high density cholesterol fraction; TAG: triacylglycerides; HFM: high fat meal; HFM+S: high fat meal with Sacha inchi oil; AHG: Attenuated Hyperglycemia Group; EHG: Enhanced Hyperglycemic Group.

SIRT-1 gene expression in PBMC

The postprandial expression of SIRT-1 in PBMC was similar with both breakfasts when considering the complete group [FC_{HFM} : 1.23 (IQR = 3.27), $FC_{HFM + S}$: 1.14 (IQR = 3.26); $p = 0.548$] and also after stratification [AHG: FC_{HFM} = 1.42 (IQR: 3.60) and $FC_{HFM + S}$ = -1.02 (IQR: 3.25); $p = 0.248$; EHG: FC_{HFM} = 1.13 (IQR: 2.86) and $FC_{HFM + S}$ = 1.18 (IQR: 3.56); $p = 0.736$].

Although, in the AHG, the expression of SIRT-1 at 4 hours post-consumption of HFM + S correlated negatively with the glucose iAUC ($r = -0.665$, $p = 0.025$), and positively with ISI ($r = 0.636$, $p = 0.035$)(Fig. 34).

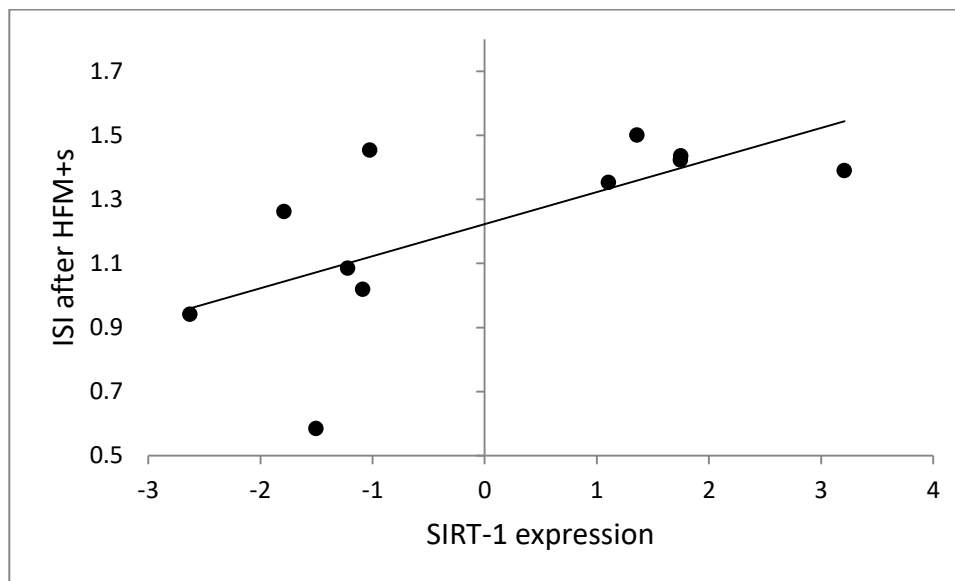


Figura 34. Correlation between Sirt-1 expression and ISI after HFM+S, in the AHG group ($r = 0.636$, $p = 0.035$).

Discussion

To our knowledge, this is the first study to evaluate the acute postprandial effect of Sacha inchi oil on changes in carbohydrate metabolism and expression of SIRT-1 produced by a fat load, in apparently healthy subjects.

We found that the concentrations of glucose and insulin with both breakfasts were similar to the first postprandial hour, but at 4 hours post HFM + S the glucose was higher, with no difference in insulin. These findings are adjusted with the increase in RI reported after chronic ingestion of this oil in other studies.^{20,21}

Although the addition of the SIO in the whole group did not modify insulin sensitivity, individual responses showed opposite behaviors. The stratification showed that AHG, which had responded to HFM with greater increase of glucose and insulin compared to EHG, attenuated both parameters after the addition of the oil. The EHG showed reverse behavior on both occasions. This behavior suggests that the effects of oil would depend not only on its intrinsic properties but on the individual's basal metabolic status²⁹⁻³², or even on other factors such as habitual diet.^{33,34} In fact, the negative correlation between alpha linolenic acid concentration in adipose tissue and IR is greater in thin individuals.³⁵

A recent meta-analysis shows that ALA intake for four months does not affect the indicators of insulin resistance in people with diabetes mellitus type 2. However ALA concentrations correlated with better levels of glycosylated hemoglobin A1C and an inexplicable high heterogeneity was found, in agreement with our results.³⁶

In the other hand, Bermudez et al. found significant improvements in sensitivity indicators related to ALA content, even in the presence of high levels of elevated TAG.⁵ The discrepancy could be explained by differences in the experimental design - a higher MUFA content, consistency and composition of the food - or could be related to particular metabolic characteristics of the participants.

In this way, higher levels of ALA in adipose tissue have been related to better levels of insulin sensitivity, especially in people without abdominal obesity, which has made it possible to suggest their inclusion in the diets of thin people to prevent the development of insulin resistance.³⁵ However, our results indicate that the effects of oil supplementation may be affected by multiple metabolic conditions, in addition to body weight. Therefore, the benefits of oil intake should be considered in reference to such conditions.

Moreover, the development of insulin resistance could be part of a response derived from adaptive mechanisms developed by primitive men to deal with stress or famine.^{37,38}

In accordance with the above, the increase in insulin resistance observed in healthier individuals could be understood as a way to cope with fat overload by delaying or preventing the entry of glucose into the tissues, in order to protect the cells or, in the worst case, it could be a true deleterious oil effect on the metabolism of carbohydrates.

An interesting find was the apparent lack of effect on glucose levels after the HFM in the EHG. This could have been provoked by a greater gastric emptying time after the high fat meal intake, without Sacha inchi oil, on this group, but similar effects were not shown in the lipid biomarkers. Therefore, these effects would be related to differences between both groups in the secretion or the action of hormones that command gastric emptying or carbohydrate metabolism.³⁹

In fact, the application of pre-selection interviews and selection of participants tried to ensure the group's homogeneity in health, eating habits and physical activity, however, AHG showed a higher concentration of fasting TAG and also showed a tendency towards IR indicators and less healthy lipid levels, similar to what was reported in another study.⁴⁰

These differences seem to play an important role in explaining the outcomes.

In the AHG group, the expression of SIRT-1 after HFM + S correlated positively with glucose sensitivity indicators, which would be consistent with the lower expression found in people with type 2 diabetes mellitus^{41,42} and altered metabolic states.^{8,43} Such effects on the expression of SIRT-1 could result from the direct action of some oil components or be a consequence of the attenuation of the

glucose and insulin levels observed after its ingestion. In both cases, our results suggest a relation between the action of SIRT-1 and the carbohydrate metabolism, explaining in part the Sacha inchi oil effects.

The results reported in this study are the first to show the effects of the consumption of SIO on the metabolism of carbohydrates and the expression of SIRT-1, under similar circumstances to its possible use as a food supplement. The strengths of this work include the pre-selection and selection of subjects that ensured compliance with inclusion and exclusion criteria and helped minimize differences in eating and physical activity habits. In addition, the design of the study with random exposure to the two kinds of foods and their standardized preparation allowed all subjects to receive identical treatments.

The limitations include the difficulty to control variables such as the lifestyle of the subjects, aspects minimized by rigorous selection. Washout period was not done at baseline, but the randomized assignment of both meals minimizes the effects from previous higher or lower calorie ingestion. In order to reduce hormonal bias, the sample comprised only male subjects; nevertheless, it limits direct extrapolation of results to female subjects.

However, our results contribute to know the effects of this oil, which is important at this time, especially because the cultivation of sachá inchi is being proposed as a possible option for the improvement of quality of life in Colombian rural areas.⁴⁴

In conclusion, the addition of SIO improved insulin sensitivity in the group with less healthy metabolic status and greater glycemic responses to fat intake. Expression of SIRT-1 in PBMC was associated with increased postprandial insulin sensitivity in this group. Establishing how a person's basal metabolic status can determine the metabolic response to PUFAs and its other compounds can help improve the use of oils rich in these fatty acids, such as Sacha inchi oil.

Conflicts of interest

There are no conflicts to declare.

Author contribution

All the authors contributed equally to design and performance of the study and to the preparation of the manuscript.

Acknowledgements

The authors wish to express their gratitude to the University of San Buenaventura and the Genomic Medicine Laboratory of ICESI University, for their ongoing collaboration and to participants who made this work possible.

This study was supported by San Buenaventura University and ICESI University.

References

1. N. Guess, L. Perreault, A. Kerege, A. Strauss and B. Bergman, Dietary fatty acids differentially associate with fasting versus 2-hour glucose homeostasis: implications for the management of subtypes of prediabetes, *PLoS ONE*, 2016, **11**, e0150148, doi:10.1371/journal.pone.0150148
2. G. Derosa, A.F.G. Cicero, A. D'Angelo, C. Borghi and P. Maffioli, Effects of n-3 PUFAs on fasting plasma glucose and insulin resistance in patients with impaired fasting glucose or impaired glucose tolerance, *BioFactors*, 2016, **42**, 316-322. doi: 10.1002/biof.1277
3. P.M. Kris and J.A. Fleming, Emerging nutrition science on fatty acids and cardiovascular disease: nutritionists' perspectives, *Adv Nutr.*, 2015, **6**, 326S-337S. doi: 10.3945/an.114.006981
4. M.A. McArdle, O. M. Finucane, R. M. Connaughton, A. M. McMorrow and H. M. Roche, Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. *Front. Endocrinol.*, 2013, **4**, 52 doi: 10.3389/fendo.2013.00052
5. B. Bermúdez, A. Ortega, L.M. Varela, J. Villar, R. Abia, F.J.G. Muriana and S. López, Clustering effects on postprandial insulin secretion and sensitivity in response to meals with different fatty acid compositions, *Food. Funct.*, 2014, **5**, 1374-1380. doi: 10.1039/c4fo00067f
6. I. Peluso, H. Manafikhi, R. Reggi, Y. Longhitano, C. Zanza and M. Palmery, Relationship between the peroxidation of leukocytes index ratio and the improvement of postprandial metabolic stress by a functional food, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2016, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/5630985>
7. Y. Cao, X. Jian, H. Ma, Y. Wang, P. Xue, Y. Liu, SIRT1 and insulin resistance, *J. Diabet. Complications*, 2016, **30**, 178-183 doi:10.1016/j.jdiacomp.2015.08.022
8. S.V. Kreutzenberg, G. Ceolotto, I. Papparella, A. Bortoluzzi, A. Semplicini, C. Dalla, C. Cobelli, G.P. Fadini and A. Avogaro, Downregulation of the longevity-associated protein sirtuin 1 in insulin resistance and metabolic syndrome: potential biochemical mechanisms, *Diabetes* 2010, **59**, 1006-1015. doi:10.2337/db09-1187
9. M.A.R. Lauterbach and F. T. Wunderlich, Macrophage function in obesity-induced inflammation and insulin resistance, *Eur. J. Physiol.* 2017, **469**, 385-396. doi: 10.1007/s00424-017-1955-5
10. Z. Arab Sadeghabadi, M. Nourbakhsh, P. Pasalar, S. Emamgholipour, A. Golestani, B. Larijani and M. Razzaghy-Azar. Reduced gene expression of sirtuins and active AMPK levels in children and adolescents with obesity and insulin resistance. *Obes Res Clin Pract.* 2017, **S1871-403**, 30116-3. doi: 10.1016/j.orcp.2017.10.004
11. H. Lee, S. H. Chu, J. Y. Park¹), H. K. Park, J. A. Im and J. W. Lee. Visceral adiposity is associated with SIRT1 expression in peripheral blood mononuclear cells: A pilot study. *Endocr J.*, 2013, **60**, 1269-1273.

12. Q. Liu, J. K. Xu, P. Zhang, Z. Na Z, T. Tang and X.Y. Shi, Chemical composition and oxidative evolution of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil from Xishuangbanna (China), *Grasas y Aceites*, 2014, **65**, e012. doi:10.3989/gya.075713
13. R. Chirinos, G. Zuloeta, R. Pedreschi, E. Mignolet, Y. Larondelle and D. Campos. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidant capacity, *Food Chemistry*, 2013, 141, 1732–1739.
14. E. Abedi and M. A. Sahari. Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. *Food Sci Nutr*. 2014, **2**, 443–463. doi: 10.1002/fsn3.121
15. R. Valenzuela, K. Bascuñán, R. Chamorro, C. Barrera, J. Sandoval, C. Puigredon, G. Parraguez, P. Orellana, V. Gonzalez and A. Valenzuela. Modification of docosahexaenoic acid composition of milk from nursing women who received alpha linolenic acid from chia oil during gestation and nursing. *Nutrients*. 2015, **7**, 6405-6424. doi: 10.3390/nu7085289
16. B.R. Valenzuela, R.C. Barrera, M. González-Astorga, C.J. Sanhueza and B.A. Valenzuela. Alpha linolenic acid (ALA) from Rosa canina, sachá inchi and chia oils may increase ALA accretion and its conversion into n-3 LCPUFA in diverse tissues of the rat. *Food Funct*. 2014, **5**, 1564-1572. doi: 10.1039/c3fo60688k
17. M.A. Rincón-Cervera, R. Valenzuela, M.C. Hernandez-Rodas, C. Barrera, A. Espinosa, M. Marambio and A. Valenzuela. Vegetable oils rich in alpha linolenic acid increment hepatic n-3 LCPUFA, modulating the fatty acid metabolism and antioxidant response in rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2016, **111**, 25-35. doi: 10.1016/j.plefa.2016.02.002
18. S. Winnik, C. Lohmann, E. K. Richter, N. Schafer, W. L. Song, F. Leiber, P. Mocharla, J. Hofmann, R. Klingenberg, J. Borén, B. Becher, G. A. Fitzgerald, T. F. Lüscher, C.M. Matter and J.H. Beer. Dietary α -linolenic acid diminishes experimental atherogenesis and restricts T cell-driven inflammation. *Eur. Heart J*. 2011, **32**, 2573–2584 doi:10.1093/eurheartj/ehq501
19. J. Huamán, K. Chávez, E. Castañeda, S. Carranza, T. Chávez, Y. Beltrán, C. Caffo, R. Cadillo and J. Cadenillas, Efecto de la *Plukenetia volubilis* Linneo (Sacha inchi) en la trigliceridemia posprandial, *An. Fac. Med.*, 2008, **69**, 263-266. doi: 10.15381/anales.v69i4.1128
20. F. Garmendia, R. Pando and G. Ronceros. Efecto del aceite de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L) sobre el perfil lipídico en pacientes con hiperlipoproteínemia, *Rev. Peru Med. Exp. Salud Pública* 2011, **28**, 628-632. doi: 10.1590/S1726-46342011000400009
21. J. J. Huamán, B. E. Fogel, P. I. Escobar and K. Y. Castillo. Efectos de la ingesta de *Plukenetia volubilis* Linneo o "Sacha inchi" en el perfil lipídico de adultos jóvenes, *Acta méd. Peruana.*, 2012, **29**, 155-160. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172859172012000300005&lng=es&nrm=iso [Accessed 28 April 2017]

22. G. F. Gonzales, C. Gonzales and L. Villegas. Exposure of fatty acids after a single oral administration of sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) and sunflower oil in human adult subjects, *Toxicol. Mech. Methods*, 2014, **24**, 60-69. doi: 10.3109/15376516.2013.850566
23. G. F. Gonzales and C. A. Gonzales. A randomized, double-blind placebo-controlled study on acceptability, safety and efficacy of oral administration of sacha inchi oil (*Plukenetia volubilis* L.) in adult human subjects. *Food Chem Toxicol*, 2014, **65**, 168-176. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.12.039>
24. D. R. Matthews, J. P. Hosker and A. S. Rudenski, Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man, *Diabetologia*, 1985, **28**, 412-419.
25. B. Guerci, J. L. Paul, S. Hadjadj, V. Durlach, B. Vergés, N. Attia, et al. Analysis of the postprandial lipid metabolism: use of a 3-point test. *Diabetes Metab*, 2001, **27**, 449-457. doi: DM-09-2001-27-4-1262-3636-101019-ART4
26. M. Carstensen, C. Thomsen, K. Hermans. Incremental area under response curve more accurately describes the triglyceride response to an oral fat load in both healthy and type 2 diabetic subjects. *Metabolism*, 2003, **52**, 1034-1037. doi: 10.1016/S0026-0495(03)00155-0
27. S. A. Herzberg, H. Staiger, M. Heni, C. Ketterer, M. Guthoff, K. Kantartz, F. Machicao, N. Stefan, H. U. Haring and A. Frirsche, Evaluation of fasting state-/oral glucose tolerance test-derived measures of insulin release for the detection of genetically impaired b-cell function, *PLoS ONE*, 2010, **5**, e14194. doi:10.1371/journal.pone.0014194
28. I.A. Turek, L.A. Wozniak, K. Cypryk, I. Nadel, M. Wojcik. Evaluation of leukocyte SIRT1 expression in women with gestational diabetes mellitus (GDM) in the third trimester of pregnancy, *Diabet. Klin.*, 2014, **3**, 3-11. doi: 10.1002/dmrr.2446
29. M. A. De Vries, A. Alipour, B. Klop, G. J. de Greijn, H. W. Janssen, T. L. Njo, N. van der Meulen, A. P. Rietveld, a. h. Liem, E. M. Westerman, W. W. Herder and M. C. Cabezas, Glucose-dependent leukocyte activation in patients with type 2 diabetes mellitus, familial combined hyperlipidemia and healthy controls, *Metabolism*, 2015, **64**, 213-217.
30. K. T. Teng, C. Y. Chang, L. F. Chang and K. Nesaretnam. Modulation of obesity-induced inflammation by dietary fats: mechanisms and clinical evidence, *Nutr. J.*, 2014, **13**, 12. doi: 10.1186/1475-2891-13-12
31. R. Gambino, E. Bugianesi, C. Rosso, L. Mezzabotta, S. Pinach, N. Alemanno, F. Saba and M. Cassader. Different serum free fatty acid profiles in NAFLD subjects and healthy controls after oral fat load. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, **17**, 479. doi:10.3390/ijms17040479
32. M. I. Maraki and L. S. Sidossis. Physiology in Medicine: update on lifestyle determinants of postprandial triacylglycerolemia with emphasis on the Mediterranean lifestyle, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2015, **309**, E440-9. doi:10.1152/ajpendo.00245.2015.

33. E. Bravo, M. Napolitano and K. M. Botham. Postprandial lipid metabolism: the missing link between life-style habits and the increasing incidence of metabolic diseases in western countries?, *Open Transl. Med. J.*, 2010, **2**, 1-13. doi: 10.2174/1876399501002010001
34. A. Aguado, S. Navas, M. A. Zulet and J. A. Martínez. Un postre lácteo con un perfil lipídico modificado modula los niveles posprandiales de ApoB y puede promover la sensibilidad a la insulina en adultos sanos, *An. Real Acad. Farm.*, 2014, **80**, 624-636.
35. C. E. Heskey, K. Jaceldo-Siegl, J. Sabaté, G. Fraser and S. Rajaram. Adipose tissue α -linolenic acid is inversely associated with insulin resistance in adults, *Am. J. Clin. Nutr.*, 2016, **103**, 1105-1110. doi: 10.3945/ajcn.115.118935.
36. E. Jovanovski, D. Li, H. V. Thanh, V. Djedovic, A. C. Ruiz, E. Shishtar, S. B. Mejía, J. L. Sievenpiper, R. J. de Souza, L. Duvnjak and V. Vuksan, The effect of α -linolenic acid on glycemic control in individuals with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials, *Medicine (Baltimore)*, 2017, **96**, pe6531 doi: 10.1097/MD.00000000000006531
37. T. Tsatsoulis, M. D. Mantzaris, S. Bellou and M. Andrikoula. Insulin resistance: An adaptive mechanism becomes maladaptive in the current environment - An evolutionary perspective. *Metab. Clin. Exp.*, 2013, **62**, 622-633.
38. F.K. Welty, A. Alfaddagh, T.K. Elajami. Targeting inflammation in metabolic syndrome. *Transl. Res.* 2016, **167**, 257-80. doi: 10.1016/j.trsl.2015.06.017].
39. A. Kozimor, H. Chang and J. A. Cooper. Effects of dietary fatty acid composition from a high fat meal on satiety. *Appetite*, 2013, **69**, 39-45. doi:10.1016/j.appet.2013.05.006
40. N. D. Riediger, K. Clark, V. Lukianchuk, J. Roulette and S. Bruce. Fasting triglycerides as a predictor of incident diabetes, insulin resistance and β -cell function in a Canadian First Nation, *Int. J. Circumpolar Health*, 2017, **76**, 1 doi: 10.1080/22423982.2017.1310444
41. R. Song, W. Xu, Y. Chen, Z. Li, Y. Zeng and Y. Fu. The expression of Sirtuins 1 and 4 in peripheral blood leukocytes from patients with type 2 diabetes, *Eur. J. Histochem.*, 2017, **55**, e10 doi:10.4081/ejh.2011.e10
42. F. K. Huynh, K. A. Hershberger and M. D. Hirschey, Targeting sirtuins for the treatment of diabetes, *Diabetes Manag. (Lond)* 2013, **3**, 245-257. doi:10.2217/dmt.13.6
43. S. Jukarainen, S. Heinonen, J. T. Rämö, R. Rinnankoski, E. Rappou, M. Tummers, , M. Muniandy, A. Hakkarainen, J. Lundbom, N. Lundbom, J. Kaprio, A. Rissanen, E. Pirinen and K. H. Pietiläinen, Obesity is associated with low NAD/SIRT pathway expression in adipose tissue of BMI-discordant monozygotic twins, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2016, **101**, 275-283. doi: 10.1210/jc.2015-3095
44. C. A. Bustamante and Y. Muñoz. Propuesta de negocio inclusivo: hacia un modelo de inclusión social de sacha inchi en el Bajo Cauca antioqueño. *Equidad y Desarrollo*, 2017, **27**, 125-147. doi:10.19052/ed.3834

4.3.2 Efectos de HFM+S sobre el metabolismo postprandial de lípidos. (N=42)

El efecto más notorio producido por el agregado de aceite de Sacha inchi al desayuno rico en grasas fue la atenuación de los incrementos de colesterol total (Fig. 35) y fracción no-HDL producidos por HFM (Fig. 37).

No se observaron, sin embargo, modificaciones sobre la fracción HDL (Fig. 36) ni sobre el aumento de TAG producido por la carga grasa (Fig. 38)

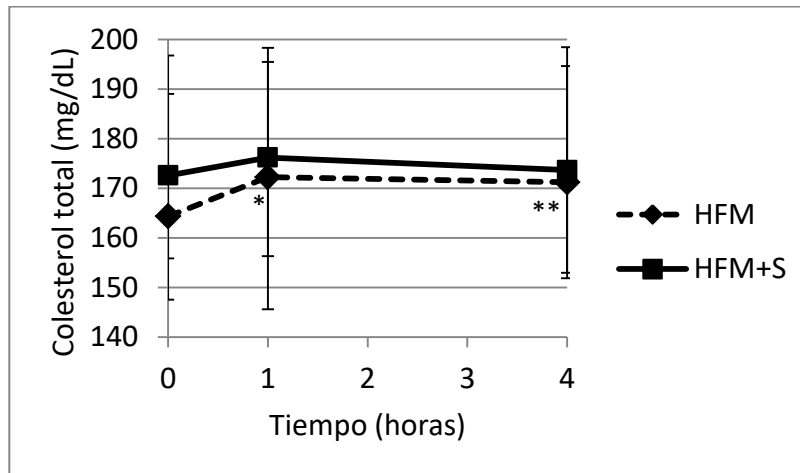


Figura 35. Concentraciones de colesterol total en suero con ambos tratamientos (n=42).

Las marcas * indican diferencias significativas respecto a ayunas y para HFM (*p<0.05; **p<0.01)

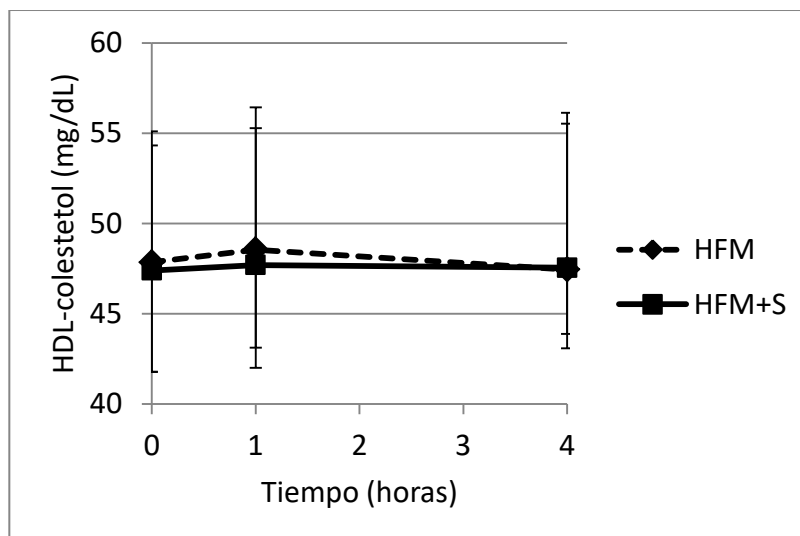


Figura 36. Concentraciones de HDL-colesterol en suero con ambos tratamientos (n=42).

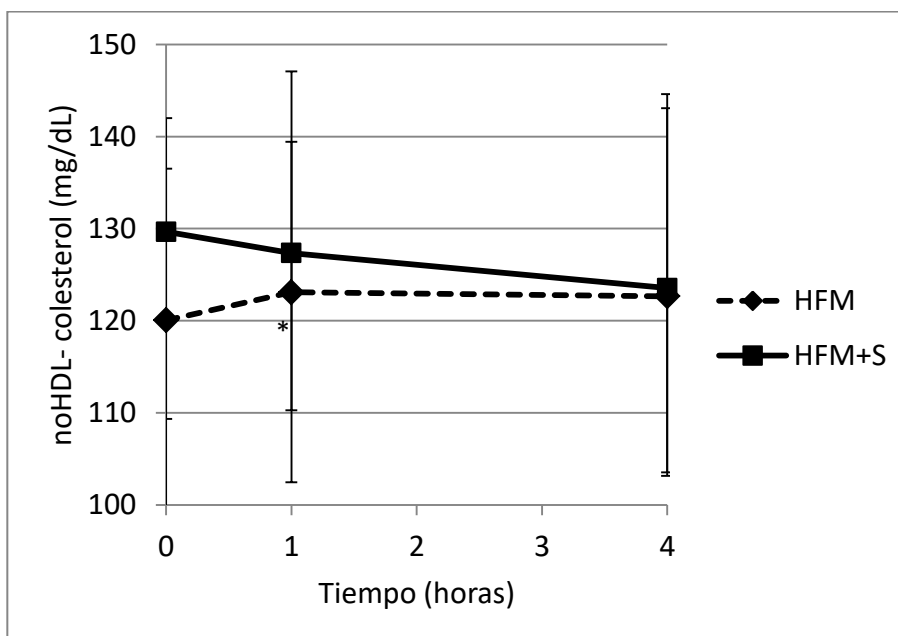


Figura 37. Concentraciones de no HDL-colesterol con ambos tratamientos (n=42).

La marca * indica diferencia significativa respecto a ayunas y para HFM (* $p < 0.05$)

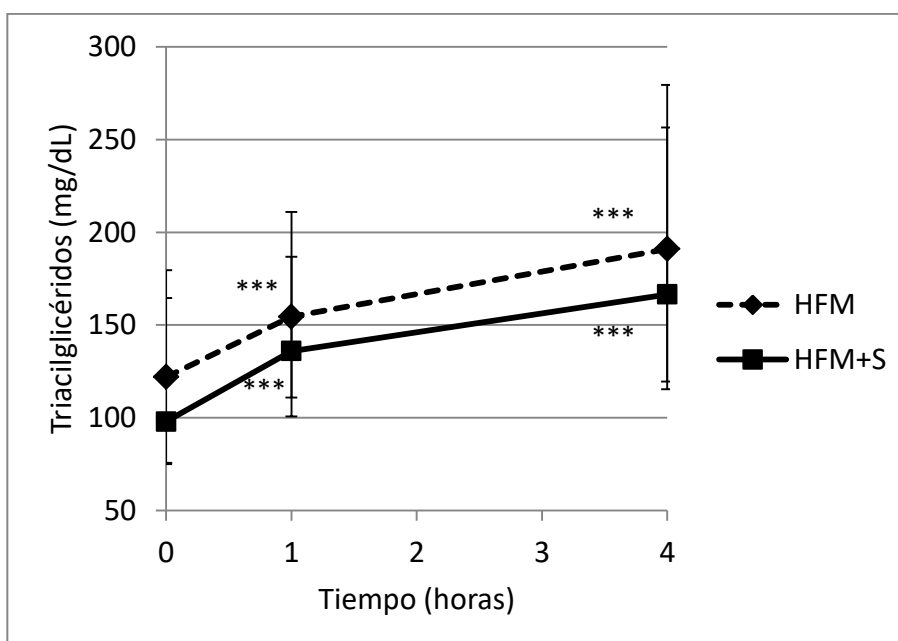


Figura 38. Concentraciones de triacilglicéridos en suero con ambos tratamientos (n=42).

Las marcas * indican diferencias significativas respecto a ayunas, para cada uno de los tratamientos (***) $p < 0.001$)

En las figuras respectivas se observan los efectos del agregado del aceite sobre CT, HDL y no HDL (Fig. 39) y TAG (Fig. 40), expresados como incrementos del área bajo las curvas respectivas, con ambos tratamientos.

Estos resultados coinciden con lo hallado por Gonzales et al (2013) en un grupo de personas con características similares a nuestro grupo. En su investigación Gonzales et al observaron que el consumo de 15 mL de aceite de Sacha inchi aumentaba los niveles de TAG y disminuía el colesterol de lipoproteínas ricas en TAG a las 4 horas post ingesta, con el hallazgo de un aumento importante en los niveles de ALA y DHA en plasma post intervención [15].

Otros autores, interviniendo un grupo de individuos con hipercolesterolemia, reportaron que dosis de 5 y 10 mL del aceite, sostenidas durante 4 meses, además de ser efectivas para disminuir los niveles de colesterol total, LDL y no HDL, lograban aumentar significativamente los niveles de HDL [14].

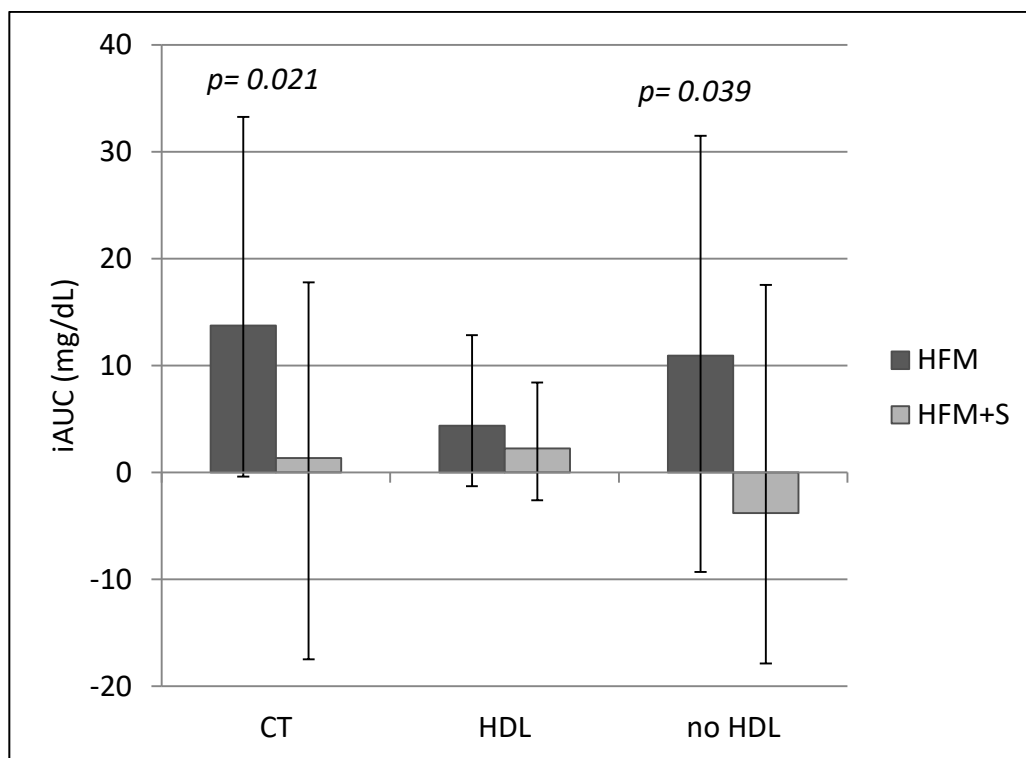


Figura 39. Efecto de ambos tratamientos sobre el incremento del área bajo la curva para colesterol total, HDL y no HDL (n=42). Valores de p comparan tratamientos.

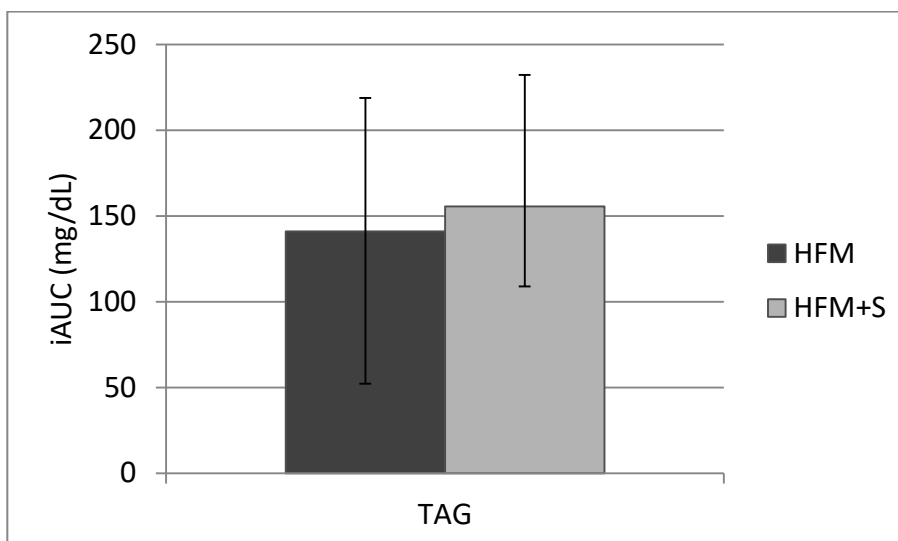


Figura 40. Efecto de ambos tratamientos sobre el incremento del área bajo la curva para TAG (n=42).

Estos hallazgos permiten evidenciar diferencias apreciables en las respuestas al consumo del aceite, probablemente debidas a las características particulares de los participantes así como a los tiempos en los cuales se realizó el estudio y seguimiento de dichas respuestas.

Aunque las anteriores experiencias se realizaron con aceite, al igual que nuestro trabajo, cabe destacar que estudios realizados con adultos jóvenes aparentemente sanos, habían mostrado que la ingesta directa de las semillas de Sacha Inchi actuaba previniendo el aumento de los triglicéridos producido por la ingesta de una comida rica en grasa [123].

Sumado a lo anterior, la ingesta de 30 g de semillas de Sacha Inchi diarios, durante 6 semanas, mostró una notable mejoría de los perfiles lipídicos en el grupo intervenido, comparado con un grupo similar que no consumió Sacha, con disminución en los niveles de colesterol total, fracción en lipoproteínas de baja densidad y triglicéridos, y aumento de la fracción HDL [124].

Sin embargo, y tal como se observó también para glúcidos, en la evaluación de los efectos sobre lípidos se presentó una importante variación entre los participantes, aspecto que fue indagado en primera instancia revisando su relación con la presencia de obesidad abdominal a fin de esclarecer qué aspectos podrían estar influyendo en tal variabilidad.

4.3.2.1 Relación entre los efectos de HFM+S sobre el metabolismo postprandial de lípidos y la presencia de obesidad abdominal.

El análisis del comportamiento de los subgrupos clasificados de acuerdo con la presencia de obesidad permite evidenciar que esta condición se halla relacionada con la respuesta a la complementación con el aceite.

Como puede observarse en la figura 41, en ausencia de obesidad, el aceite revierte el aumento de colesterol total y no-HDL, lo que no sucede en los sujetos obesos. No obstante la comparación entre tratamientos no alcanza significación estadística, en parte debido a la elevada variabilidad de respuesta, lo que permite pensar que otros factores, además de la presencia de obesidad abdominal, pueden estar influyendo en las respuestas obtenidas.

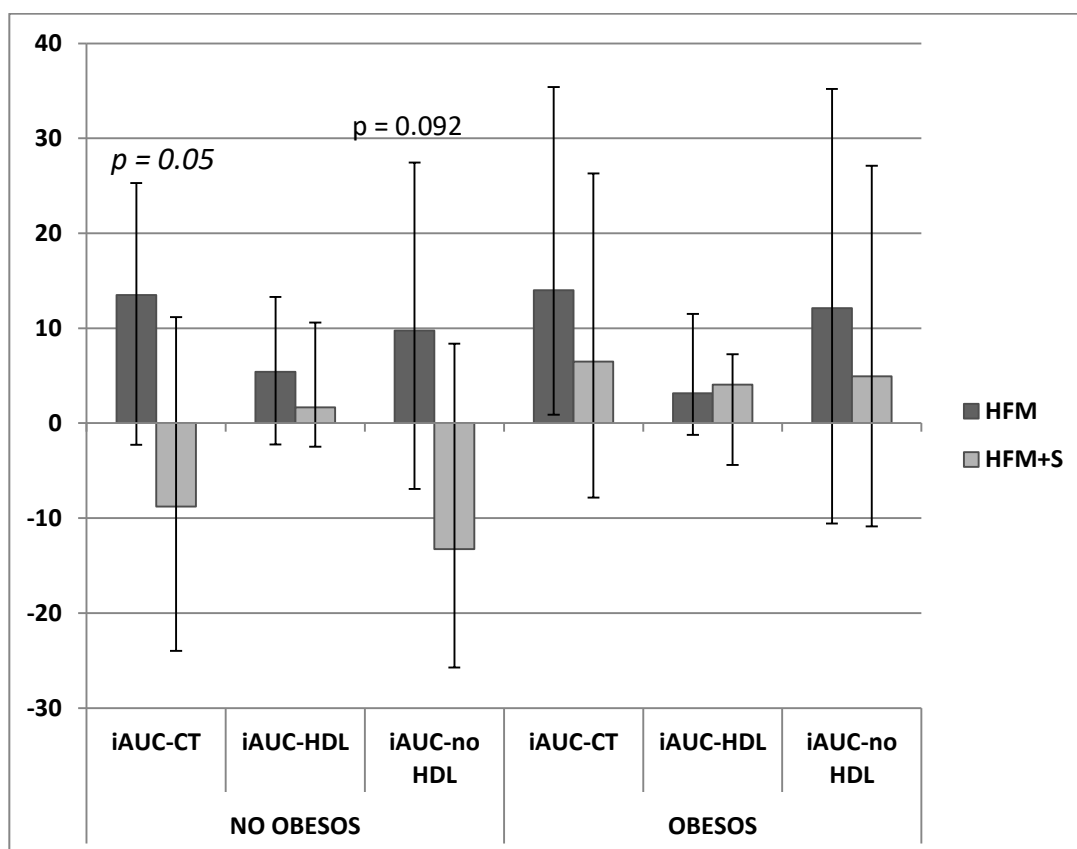


Figura 41. Efectos de ambos tratamientos sobre el incremento del área bajo la curva para colesterol total, HDL y no-HDL, discriminados de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal (n=21). El valor de p compara tratamientos.

En lo que respecta a TAG (Fig. 42), si bien el grupo con obesidad tiene mayores niveles en ayunas y postprandiales, las iAUC para este marcador son similares entre ambos grupos y para ambas intervenciones, lo que parece indicar que el agregado del aceite no influencia de manera importante el aumento postprandial de los TAG.

Sin embargo, es importante destacar que la presencia de obesidad se relacionó con una tendencia a mayores respuestas postprandiales de TAG con ambas ingestas, lo que resulta en un mayor riesgo cardiovascular en este grupo.

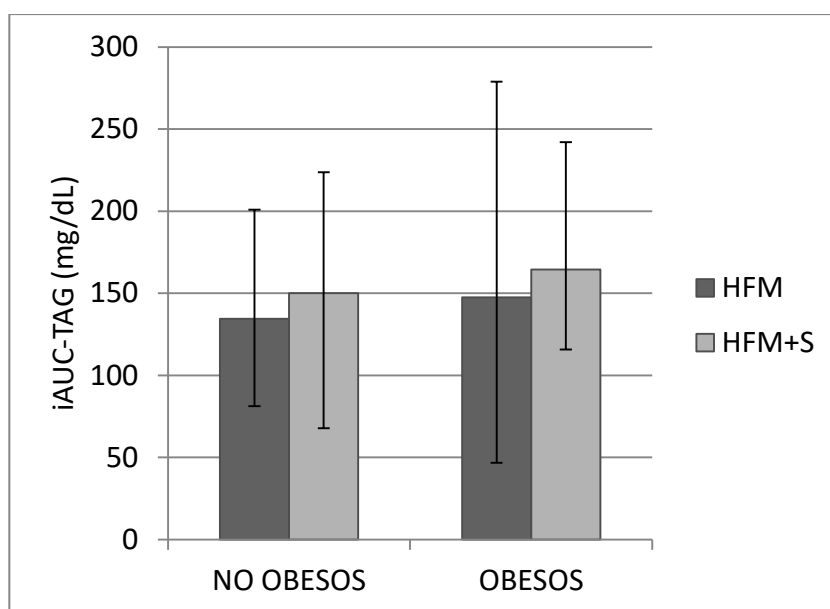


Figura 42. Efectos de ambos tratamientos sobre el incremento del área bajo la curva para triacilglicéridos, discriminados de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal.

En conjunto, estos hallazgos podrían explicar en parte las diferencias en los resultados obtenidos en otros estudios que han evaluado ingestas de este tipo de aceite sin considerar la importancia del estado metabólico en las respuestas.

4.3.3 Efectos de HFM+S sobre la respuesta inflamatoria postprandial. (N=42)

Las ingestas de HFM y HFM+S produjeron aumento en las concentraciones de LPS (Fig. 43) lo que coincide con los reportes que indican que los LPS provenientes de intestino alcanzarían la circulación mediante un proceso favorecido por el consumo de alimentos ricos en grasas y la formación de quilomicrones [139,140].

No fue posible, sin embargo, evidenciar que el consumo del aceite de Sacha inchi lograra disminuir la concentración de LPS circulante tal como había sido reportado [151].

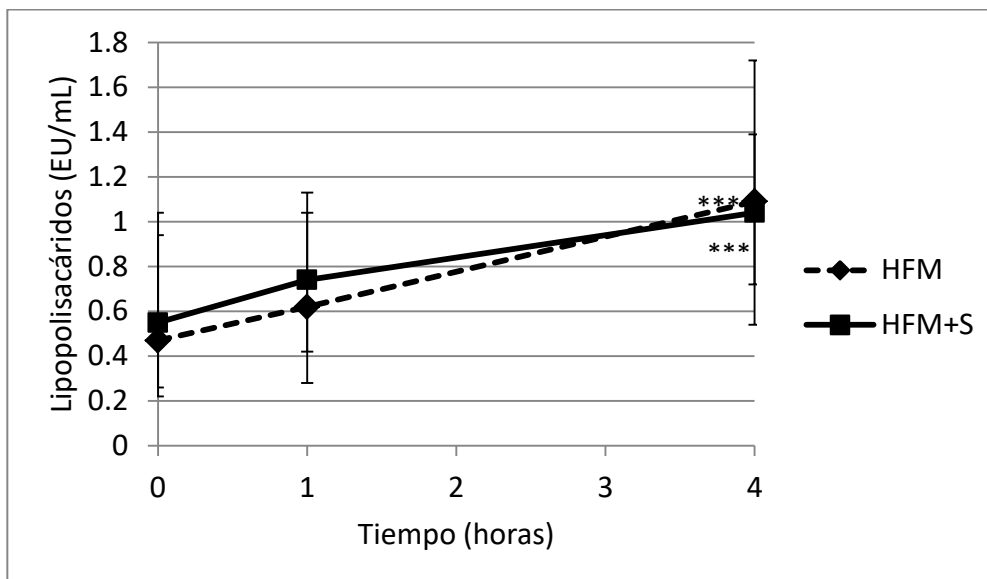


Figura 43. Concentraciones de LPS en suero con ambos tratamientos (n=42). Las marcas * indican diferencias significativas respecto a ayunas, para cada uno de los tratamientos (**p<0.001)

Ambas ingestas produjeron similar aumento en la concentración de PCR (Fig. 44).

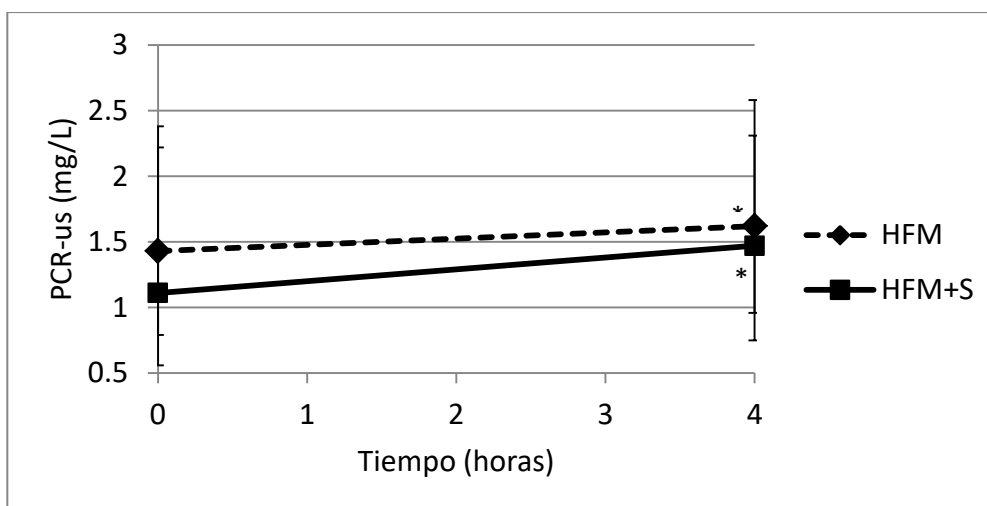


Figura 44. Concentraciones de PCRus en suero con ambos tratamientos (n=42). La marca * indica diferencia significativa respecto a ayunas, para HFM+S (*p<0.05)

A diferencia de este estudio, otros autores [152] no habían reportado aumento en las concentraciones de PCR postprandiales en intervenciones similares, lo que podría deberse a los hábitos alimenticios de nuestra población, con mayor exposición previa a alimentos ricos en grasa, lo que ha mostrado incidir en la respuesta postprandial de la PCR [153].

La ingesta de HFM no modificó los niveles basales de IL-6 en suero, a diferencia del consumo del aceite de Sacha inchi el cual provocó su disminución (Fig. 45).

El comportamiento postprandial de IL-6 ha sido motivo de controversia y se ha sugerido que podrían estarse reportando aumentos producidos por la inflamación local derivada de la toma de muestra con catéteres [154,155], situación que fue controlada en nuestro estudio mediante las precauciones mencionadas anteriormente.

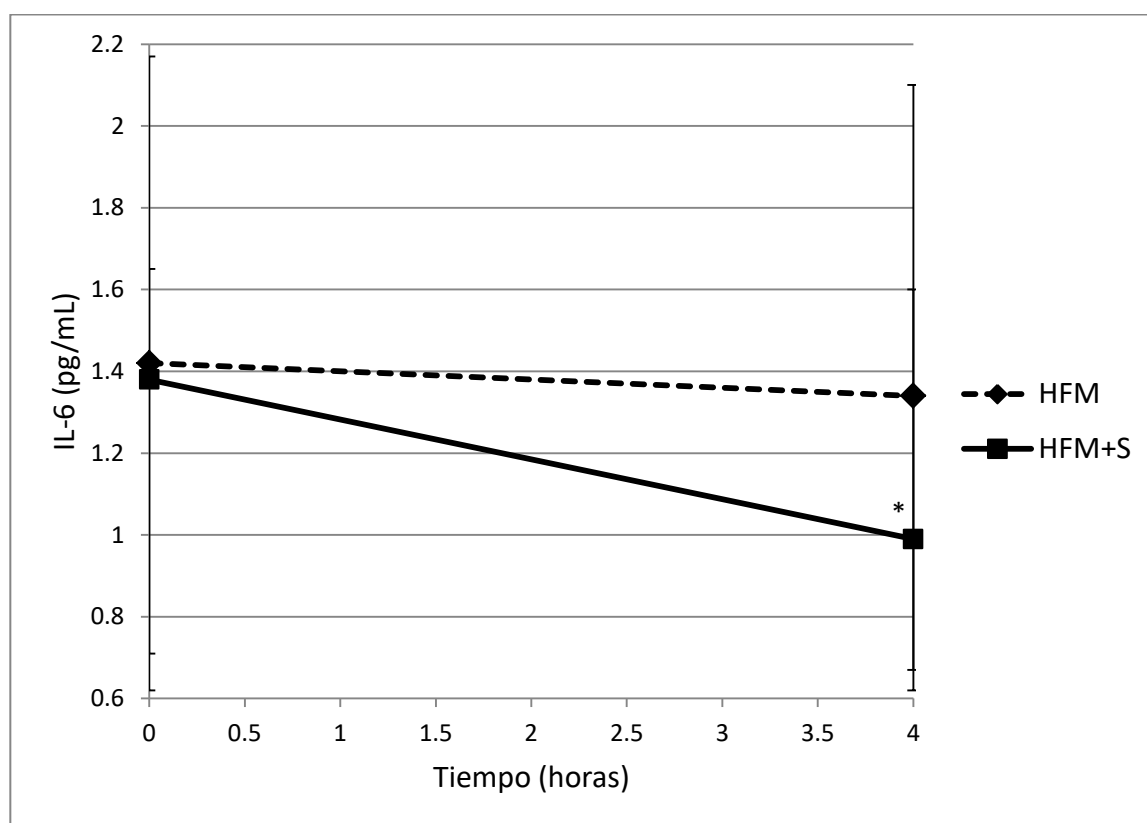


Figura 45. Concentraciones de IL-6 en suero con ambos tratamientos (n=42). Las marca * indica diferencia significativa respecto a ayunas, para HFM+S (*p<0.05)

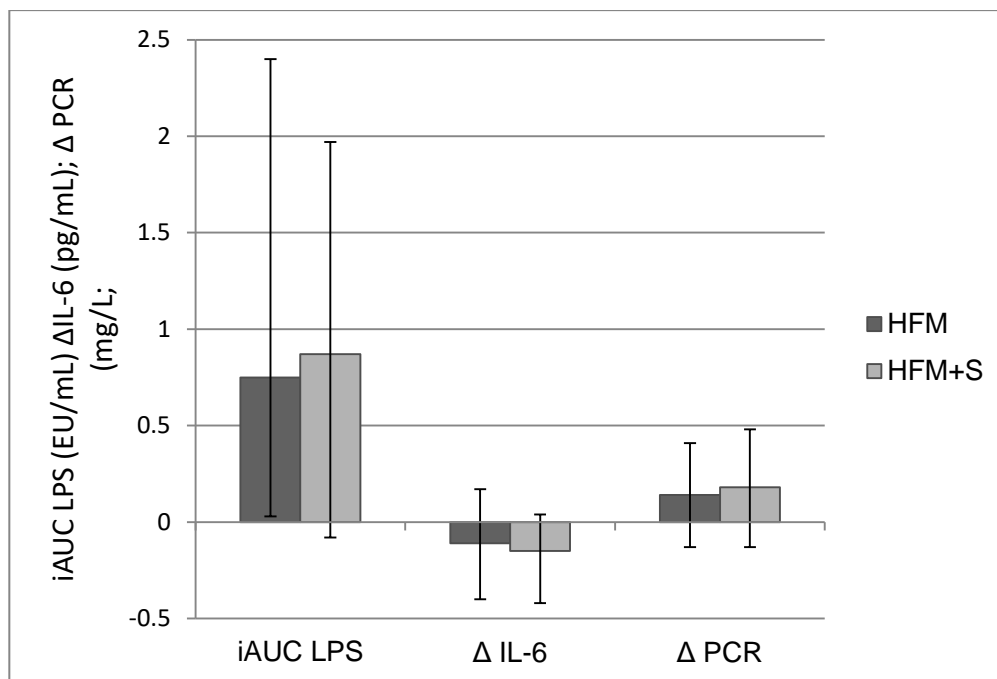


Figura 46. Efectos de ambos tratamientos sobre el incremento del área bajo la curva para LPS y el aumento de IL-6 y PCR (n=42).

Tomando en consideración que los factores inflamatorios, tales como LPS de origen intestinal y citocinas como la IL-6 están relacionados con la presencia y el desarrollo de estados de IR [156], y de acuerdo con la línea de análisis de resultados, se revisó la influencia de la presencia de obesidad abdominal, respecto a las variables de inflamación, lo que se presenta a continuación.

4.3.3.1 Relación entre los efectos de HFM+S sobre la respuesta inflamatoria postprandial y la presencia de obesidad abdominal.

En el grupo sin obesidad abdominal el agregado de Sacha inchi se relacionó con mayor disminución en IL-6, así como con una tendencia a potenciar el aumento de LPS y PCR (Figura 47).

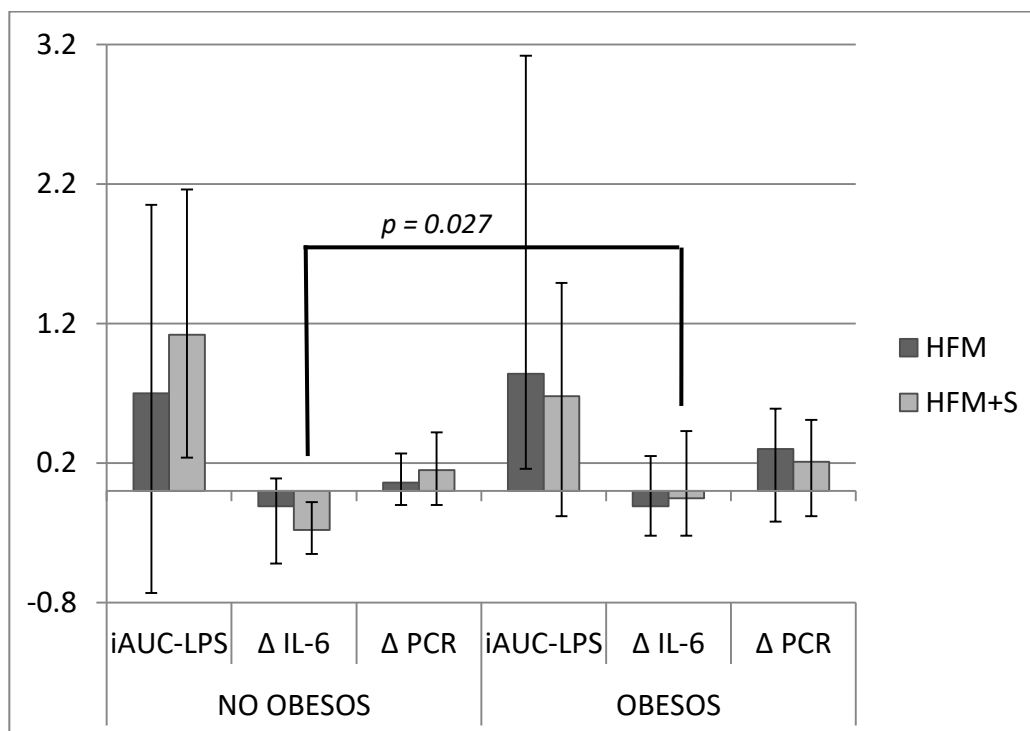


Figura 47. Efectos de ambos tratamientos sobre el incremento del área bajo la curva para LPS y la diferencia entre tiempo 4 y ayunas de IL-6 y PCR, discriminados de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal (n=21). La línea horizontal corresponde a la significación estadística de la diferencia entre Δ IL-6 con HFM+S, de acuerdo con la presencia de obesidad abdominal.

Es importante destacar la elevada variabilidad en las respuestas en ambos grupos y más marcada en el grupo con obesidad, especialmente para LPS, lo que sugiere que la heterogeneidad de resultados podría estar incluyendo otros factores metabólicos.

De acuerdo con lo publicado por Badoud, 2015 [27], y acorde con lo expresado por otros autores, las respuestas dependen no solo de la presencia de obesidad sino de las alteraciones metabólicas que presenten los sujetos.

En otras palabras, la obesidad o la falta de ella no implican inequívocamente el estado de salud metabólica, siendo posible el hallazgo de personas delgadas metabólicamente enfermas y obesas metabólicamente sanas.

Estas características de salud, en su conjunto, serían las que definen la respuesta al reto metabólico de una ingesta y, probablemente, pudieran guardar alguna relación con el efecto derivado del agregado del aceite de Sacha inchi.

Por lo anterior, se clasificaron los participantes como metabólicamente sanos (MH) cuando presentaran de 4 o más de las siguientes características: BMI <28.0 kg /m², HDL-C > 1.00 mmol/L (39.0 mg/dL), LDL-C <2.60 mmol/L (100 mg/dL), TC <5.20 mmol/L (200 mg/dL), HOMA-IR <1.95 or TAG <1.7 mmol/L (150 mg/dL). Estos valores se tomaron a partir de la clasificación propuesta por Badoud, 2015 [27].

Los resultados cruzados de ambas clasificaciones se observan en la figura 48.

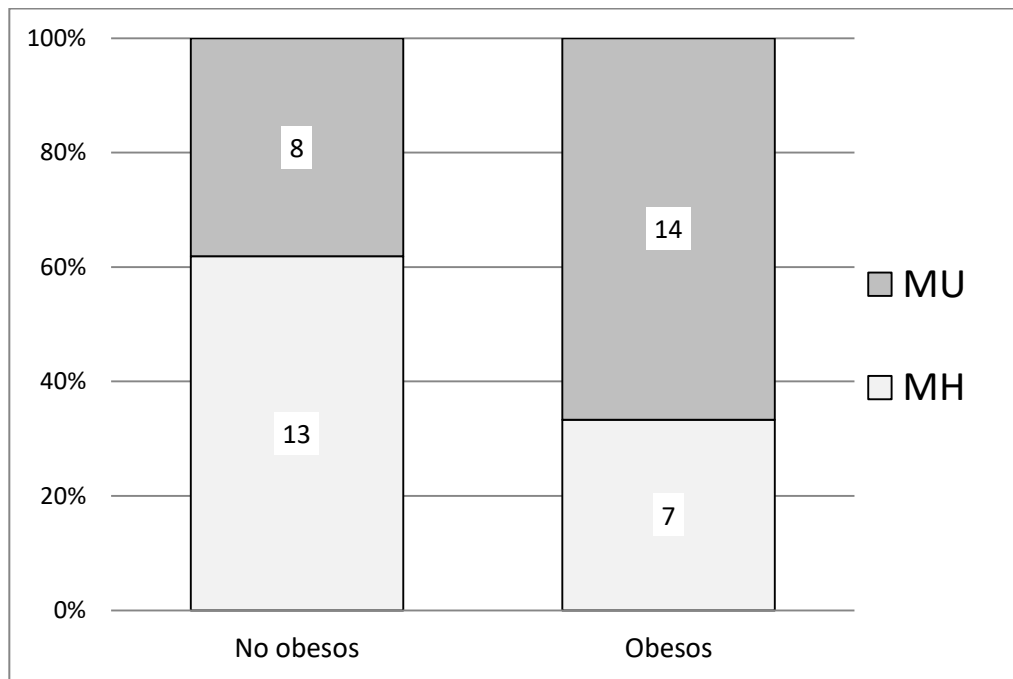


Figura 48. Distribución porcentual de número de no obesos y obesos, de acuerdo con el estado de salud metabólica.

Interesantemente, se halló que un 33 % de los individuos con obesidad resultaron metabólicamente saludables. Resulta preocupante, sin embargo, que un 38 % de personas sin obesidad presentaran características metabólicas que los ubicaron en categoría no saludable. Dichas alteraciones pasarían desapercibidas si la presencia de obesidad fuera un criterio previo para la realización de los exámenes clínicos de laboratorio, como suele suceder en la práctica diaria.

Luego de la estratificación según características metabólicas, se observó que el agregado del aceite no modificó el aumento de LPS producido por HFM, en ninguno de los grupos, y aunque parece haber una tendencia a incrementar PCR

en ausencia de alteraciones metabólicas, esta no fue estadísticamente significativa.

En este último grupo, con mejores indicadores metabólicos en ayunas, el agregado del aceite de Sacha inchi potenció la caída de IL-6 (Fig.49). Los resultados arroja similar análisis respecto al obtenido clasificando por obesidad, excepto para la tendencia a potenciar el aumento de LPS tras el agregado de Sacha que parecía observarse en el grupo sin obesidad, lo que probablemente fuera un efecto derivado de las alteraciones del metabolismo, ajustadas tras la nueva estratificación.

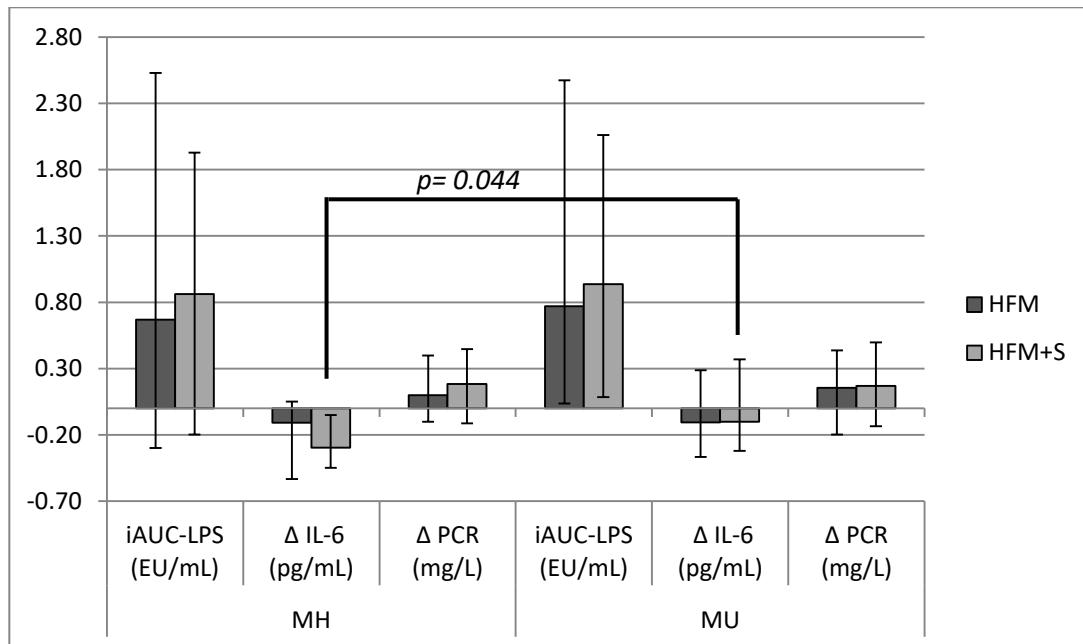


Figura 49. Efectos de ambos tratamientos sobre LPS, IL-6 y PCR, de acuerdo con el estado de salud metabólica (MH/n=20; MU/n=22).

La línea horizontal corresponde a la significación estadística de la diferencia entre Δ IL-6 con HFM+S, de acuerdo con el estado de salud metabólica.

Contrario a las concentraciones circulantes de IL-6, su expresión en PBMC aumentó en el grupo MH con ambas intervenciones [(Fold change post HFM= +1.59 (RIC-3.95/2.77) y post HFM+S= +1.41 (RIC-1.30/2.98)], mientras que disminuyó en el grupo MU [(Fold change post HFM= -1.19 (RIC-1.72/1.93)], con mayor efecto tras consumir el aceite [Fold change HFM+S= -1.83 (RIC-4.82/-0.01), $p=0.017$]. La inclusión en el análisis estadístico de los valores atípicos (Figura 50) no alteró los resultados ni las conclusiones que se derivan de su análisis.

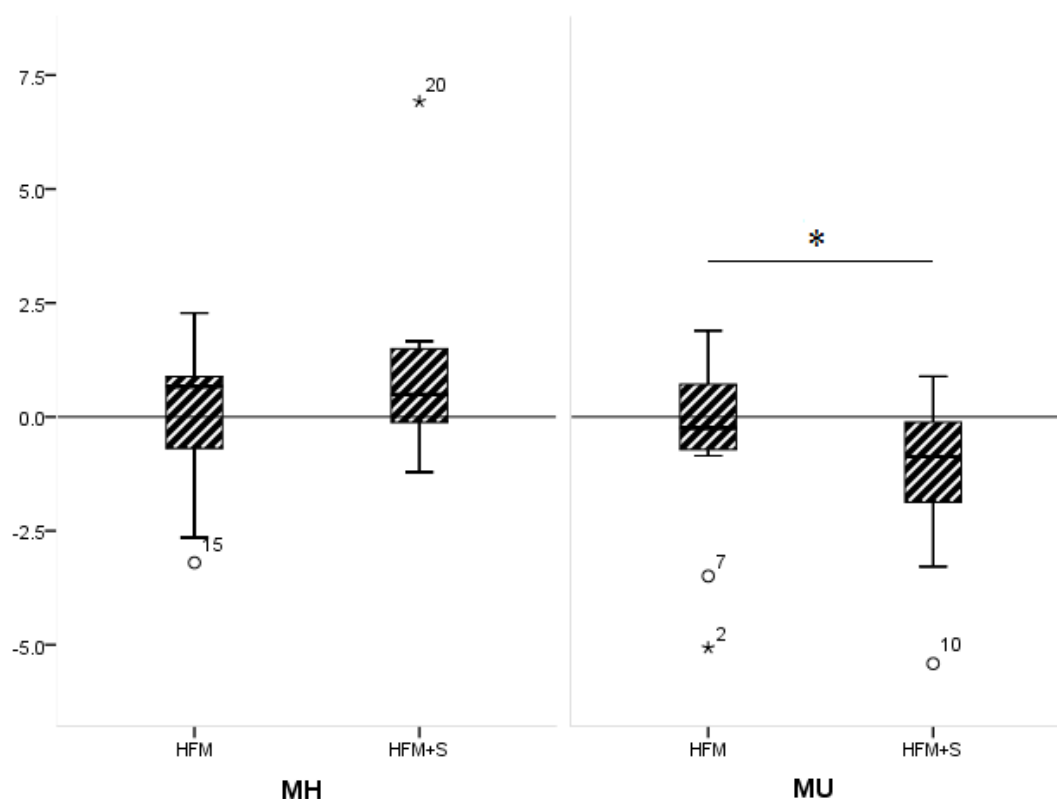


Figura 50. Efecto de ambos tratamientos sobre la expresión de IL-6 (\log_2) en ambos grupos (MH y MU).

Las cajas muestran los valores de Fold change ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) al final de las intervenciones. Los bigotes corresponden a percentiles 25 y 75. La marca asterisco corresponde a $p=0.017$

En el grupo MH el consumo del aceite produjo una mayor disminución en la concentración circulante de IL-6, con escaso efecto sobre su expresión en PBMC, lo que sugiere que los niveles en suero de IL-6 no siempre reflejan la producción en los monocitos circulantes. Otros tejidos, como el adiposo [118] y el muscular, que intervienen en el metabolismo de esta citocina, han mostrado ser sensibles a la etapa postprandial y depender del estado metabólico, por lo que sus aportes así como la cinética de su metabolización, podrían explicar los resultados observados.

En el grupo MU, el aceite se relacionó con disminución de la expresión de IL-6 en PBMC ($p=0.017$). En este grupo, con la ingesta del aceite también se perdió la correlación entre el incremento LPS y la expresión de IL-6 ($r=0.729$; $p=0.005$) observada tras la ingesta de HFM. Este efecto podría corresponder a respuestas diferentes frente a los compuestos del aceite de sachá inchi (PUFA, polifenoles y otros antioxidantes) debido a la condición metabólica de cada grupo.

Estos resultados sugieren que el papel de los monocitos circulantes durante la respuesta aguda a la ingesta, sería diferente dependiendo del estado metabólico

del individuo, lo cual genera interrogantes para futuras investigaciones con mayor número de marcadores e intervenciones más prolongadas.

El análisis detallado de los resultados estratificados de acuerdo con la presencia de alteraciones metabólicas simultáneas se encuentra en fase de publicación y se presenta a continuación.

4.3.3.2 Relación entre los efectos de HFM+S sobre lípidos e inflamación postprandiales y el estado de salud metabólica.

En este artículo se analiza de qué manera el estado metabólico se relaciona con la respuesta lipídica e inflamatoria derivada de la ingesta de una comida rica en grasas (HFM) y con los efectos producidos por el agregado de aceite de Sacha inchi (HFM+S).

- **The effects of adding of Sacha inchi oil on postprandial inflammation and lipid profile are related with metabolic status. Randomized Clinical Trial (sometido a evaluación en revista científica)**

A.N. Alayon^{a✉}, J.G. Ortega^b and I.Echeverri^c

^aDoctoral candidate of Biomedical Sciences University of Valle, Cali - Colombia. Research Professor Biomedical Research Group. Associate Professor University of San Buenaventura, 32 Dg # 30-966, Cartagena - Colombia.

^bPhD of Biomedical Sciences. Research Group in basic sciences and clinics, Researcher Pontificia Javeriana University, 18 St # 118-250, Cali - Colombia. e-mail: guileort@gmail.com

^cPhD in Biomedical Sciences. Research Professor Biomedical Research Group, Faculty of Health Sciences, ICESI University, 18 St # 122-135, Cali - Colombia. e-mail: iecheverri1@icesi.edu.co

✉Corresponding author: aalayon@usbctg.edu.co; aalayon@gmail.com

SUMMARY: Sacha Inchi Oil (SIO) is an attractive source of polyunsaturated acids oil. A randomized double blind cross-over clinical trial was done to evaluate the influence of metabolic status on SIO effects on lipid profile and postprandial inflammatory state caused by high fat intake. For this, 20 metabolically healthy (MH) and 22 metabolically unhealthy (MU) subjects consumed a high-fat breakfast alone or supplemented with SIO. The lipid and inflammatory markers were measured in serum upon fasting, and after one and four hours after breakfast. The expression of interleukin-6 (IL-6) was determined in mononuclear cells. In the MH group, SIO reversed the cholesterol increase and decreased interleukin-6 concentration. In MU group, SIO avoided lipopolysaccharides increase and interleukin-6 expression. The effects of a high fat meal on postprandial lipids and

inflammation could be modified by the addition of SIO, but the outcomes depend of the metabolic status.

KEYWORDS: *Diet, High-Fat; Inflammation; Lipid Metabolism; Postprandial Period*

RESUMEN: *Sacha inchi (SIO) es una atractiva fuente de ácidos grasos poliinsaturados. Se realizó un ensayo clínico doble enmascarado aleatorizado para evaluar los efectos del agregado de SIO sobre los cambios lipídicos e inflamatorios postprandiales causados por una ingesta de grasas, en sujetos con diferentes estados metabólicos. Para ello, 20 individuos saludables (MH) y 22 no saludables (MU) consumieron un desayuno rico en grasas, solo o complementado con SIO. Se midieron en suero lípidos y marcadores inflamatorios en ayunas y a la hora y 4 horas post consumo y expresión de interleucina 6 (IL-6) en células mononucleares de sangre periférica. En MH, SIO revirtió el aumento de colesterol y disminuyó la concentración de IL-6. En MU, SIO evitó el aumento de lipopolisacáridos y de la expresión de IL-6. Los cambios postprandiales de una comida rica en grasa pueden ser modificados por la adición de SIO, pero los resultados dependen del estado metabólico.*

PALABRAS CLAVE: *Dieta alta en grasas; Inflamación; Metabolismo lipídico, Periodo posprandial*

ORCID: Alayon AN <http://orcid.org/0000-0002-4813-9971>, Ortega JG <http://orcid.org/0000-0003-2112-3870>, Echeverri I <http://orcid.org/0000-0001-7916-3897>

Abbreviations

BMI	Body mass index
DHA	Docosahexaenoic acid
EPA	Eicosapentaenoic acid
FC	Fold change
G	Glucose
HDL-C	High-density lipoprotein cholesterol
HFM	High fat meal
HFM+S	High fat meal with Sacha Inchi Oil
HOMA-IR	Homeostasis Model Assessment-insulin resistance index
hs-CRP	High-sensitivity C-reactive protein
iAUC	Incremental area under the curve
IL-6	Interleukin 6
IQR	Interquartile range
LDL-C	Low-density lipoprotein cholesterol
LPS	Lipopolysaccharides
MH	Metabolically healthy
MU	Metabolically unhealthy
MUFA	Monounsaturated fatty acids

PBMC	Peripheral blood mononuclear cell
PUFA	Polyunsaturated fatty acids
q-PCR	Quantitative polymerase chain reaction
r	Spearman's rank correlation coefficient
SFA	Saturated fatty acids
SIO	Sacha inchi oil
TAG	Triacylglycerides
TC	Total Cholesterol
WC	Waist circumference

INTRODUCTION

In the postprandial stage, the increase of TAG-rich lipoproteins in circulation has been related to entry of intestinal bacterial lipopolysaccharides and to activation of cytokine release cascades and increase in inflammation markers such as IL-6 and C reactive protein (Herieka and Erridge, 2014; Vors *et al.*, 2015).

These postprandial changes have been associated with development of cardiovascular disease (Borén *et al.*, 2014) and their magnitude seems to be related to metabolic status of individuals and intake content (Badoud *et al.*, 2015; Schwander *et al.*, 2014). Saturated Fatty Acids (SFAs) promote inflammatory reactions, while ω 3 (n-3) polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and polyphenols cause the opposite effect, so their consumption is considered beneficial for health (Guess *et al.*, 2016; Derosa *et al.*, 2016).

An attractive source of PUFAs are vegetable oils, such as those extracted from the seeds of a wild oleaginous called Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*), which contains high levels of alpha-linolenic (18:3n-3) and linoleic acids (18:2n-6) and polyphenolic compounds (Chirinos *et al.*, 2013).

Some studies have evaluated Sacha inchi oil (SIO) effects on lipids and carbohydrates (Gonzales *et al.*, 2014; Huamán *et al.*, 2008; Huamán *et al.*, 2012; Garmendia *et al.*, 2011; Gonzales *et al.*, 2014a), but the effect on postprandial inflammatory response induced by saturated fat intake, has not been explored yet.

Taking into account the above, a randomized double-blind crossover clinical trial was carried out in order to evaluate the influence of metabolic status on the effect of SIO on lipid profile and the postprandial inflammatory state caused by the intake of a high-fat breakfast.

1. MATERIALS AND METHODS

1.1. Study design

A randomized cross-over trial, in which the patients and the lab technician were blinded, was conducted to compare the effects of two different breakfasts. Both were designed with similar taste, smell, and consistency characteristics. One of them, named high fat (HFM) included 100 g of buttered bread and sweetened coffee [874 cal, 59% came from fat (SFA 32%, MUFA 23%, PUFA 4%), 37% from carbohydrates, and 4% proteins]. The other, named HFM+S, also included 15 mL of commercial SIO [998 cal, 65% from fats (SFA 30%, MUFA 20%, PUFA 15%)]. Participants were randomly assigned to a sequence of two test meals on two separate days with a 2 weeks washout period and were randomized to ensure that half were given HFM and half HFM+S.

After an overnight fast, participants reported to the laboratory at 7:00 am and a venous blood sample was taken by venipuncture and a meal was consumed within 15 min and blood samples were then taken at 1 and 4 h after the meals. Participants were allowed to drink water but no other beverages and food and they remained seated during the study and were instructed to maintain their usual lifestyle in the periods between the meals. The samples for inflammatory markers were taken in different arms and in veins of easy access.

All the subjects signed informed written consent and all the experiments were conformed to the principles set out in the WMA Declaration of Helsinki. Protocol was approved by the ethics committees of ICESI University and University of San Buenaventura. This trial is registered at ClinicalTrials.gov as NCT02886169.

1.2. Participants, inclusion/exclusion criteria

The sample size was calculated by estimating a minimum TAG difference of 0.6 mmol/L, with a SD=0.9 mmol/L, a power of 80% (Huamán, et al 2008; 2012), and by assuming a drop out of 15%, calculated per group, n=21. In order to reach this sample size, 143 subjects were initially pre-selected, who met the inclusion criteria (male gender, 29-64 age range, non-smokers, and low physical activity). From these, 56 subjects were assessed for eligibility, but 14 were excluded. Finally, 42 subjects were selected by stratified random sampling according to waist circumference (≥ 92.0 cm or < 92.0 cm).

The following exclusion criteria were evaluated during the random sampling: 1) Diagnosis of diabetes mellitus or dyslipidemia, 2) intake of medication or vitamins, 3) diet or weight modification in the last two months, 4) contraindication to fat intake or wheat flour.

After the biochemical analysis of the samples, participants were classified in the MH group if they fulfilled four or more of the following characteristics: BMI <28.0 kg /m², HDL-C > 1.00 mmol/L, LDL-C <2.60 mmol/L, TC <5.20 / mmol/L, HOMA-IR <1.9 or TAG <1.7 mmol/L. These values were taking from Badoud *et al.* (2015).

Those who did not fulfill these criteria were classified into the MU group. The flow diagram is shown in Figure 51.

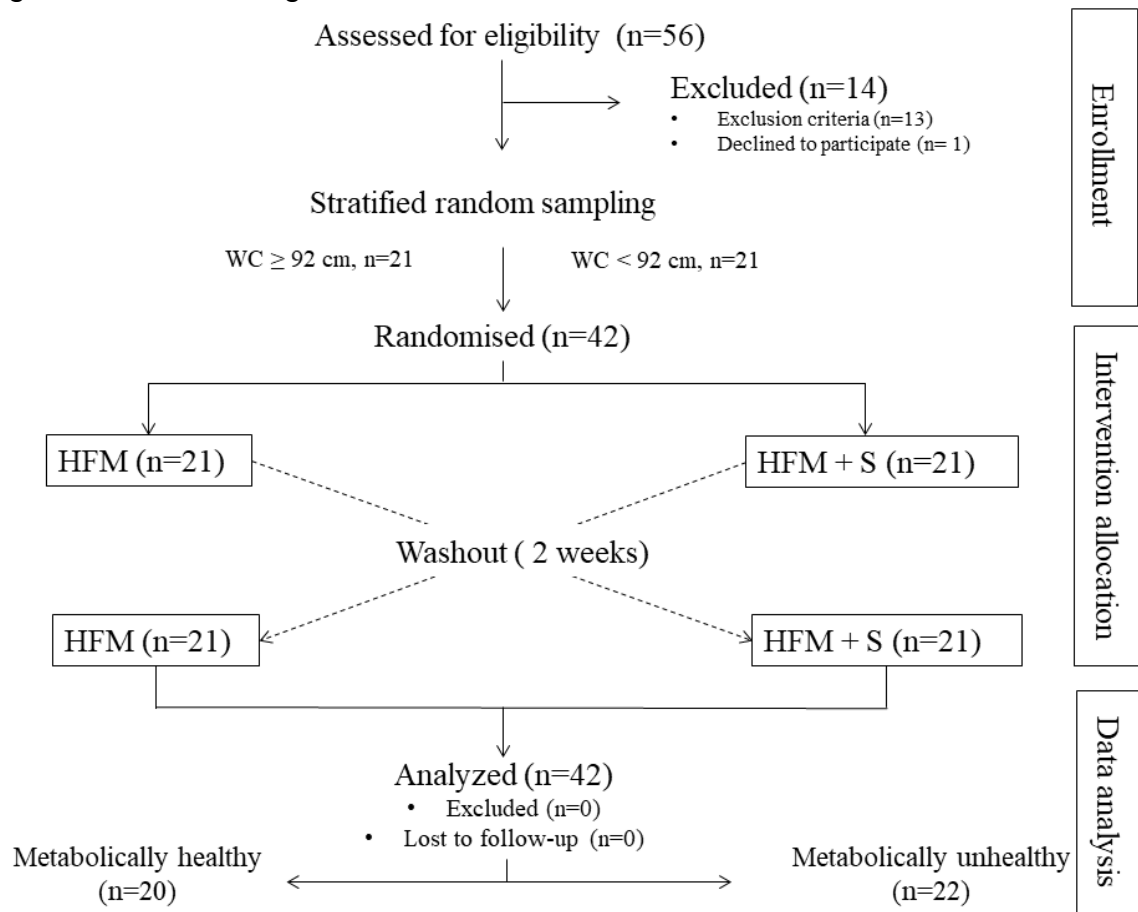


Figure 51. Flow diagram of enrollment, random assignment of the intervention, withdrawals and follow-up of the study subjects.

1.3. Sample processing

Sera were separated and preserved at -20 °C until processing. Glucose and lipid concentrations were measured with commercial kits.

Insulin and IL-6 were measured by enzyme immunoassay (Insulin-AccuBind and Human IL-6 High Sensitivity-eBioscience, respectively). HOMA-IR index was

calculated as Fasting glucose (mmol/L) x Fasting insulin (uU/mL) / 22.5. Hs-CRP was determined by immunoturbidimetry (CRP-ULTRA Spinreact).

LPS were quantified by the chromogenic end-point method (QCL-1000™ Endpoint Chromogenic LAL Assays-Lonza), prior serum dilution 1/20 on pyrogen-free water and inactivation at 75° C for 15 minutes.

1.4. Gene Expression Analysis

Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated from 10 mL of whole blood by density gradient using Polymorphprep (Axis Shield) and were preserved in RNeasy® (Sigma Aldrich) at -70 °C until processing.

RNA extraction was performed by RNeasy Mini Kit (Qiagen) and Retrotranscription by Super Script IV Reverse Transcriptase® (Thermo Fisher Scientific), with 100 ng/reaction.

Expression of IL-6 was measured on a 7500 Fast (Applied Biosystems) in triplicates in 22 samples, with the following primers: IL-6 forward 5'GTGGCTGCAGGACATGACAA3', reverse IL-6 5'TGAGGTGCCCATGCTACATTT3' (Chen, Shao, Wu, Huang, & Lu, 2016). GAPDH was used as reference (forward 5'TGCACCACCAACTGCTTAGC 3', reverse 5'GGCATGGAC-TGTGGTCATGAG 3'). SYBR™ select master mix was used for gene expression.

Relative mRNA level for each transcript was calculated by the DDcycle threshold method (Ct) (Livak, & Schmittgen, 2001). DDCT was calculated as DCt at 4h after eating minus DCt at fasting level. Fold change in mRNA expression was calculated as 2^{-DDCT} .

1.5. Statistical analysis

Shapiro-Wilk test was used in order to assess normality and Levene test for equality of variances. Data were expressed as mean and standard deviation, or median and interquartile ranges.

Student T-test or Mann-Whitney U-test were used in order to compare MH vs MU groups; and paired samples T-test or the Wilcoxon signed-rank test were used in order to between sample times.

Intervention effect was measured as three-point incremental area under the curve (iAUC), and calculated by trapezoidal method prior subtraction of fasting values to

each postprandial (Guerci *et al.*, 2001; Carstensen *et al.*, 2003). Correlations were expressed with Spearman rank correlation coefficient. Data were analyzed using SPSS software (Version 21.0, SPSS Inc., Chicago, IL).

2. RESULTS

2.1. Subjects

From 42 subjects, 20 were classified as metabolically healthy (MH) and 22 metabolically unhealthy (MU). Groups were equal in age range and fasting glucose (Table 25).

Tabla 25 Anthropometric features, glucose, insulin and HOMA-IR at baseline discriminating by metabolically healthy (MH) and metabolically unhealthy (MU).

	MH (n=20)	MU (n=22)	IC95% Difference	p-value
	Mean (DS)	Mean (DS)		
Age (years)	38.7 (8.2)	41.3 (9.6)	-8.1 a 3.0	0.357
BMI (kg/m ²)	25.0 (3.8)	28.0 (5.3)	-5.9 a -0.2	0.039
WC (cm)	89.3 (10.9)	98.5 (11.3)	-16.2 a -2.3	0.010
Glucose (mmol/L)	4.9 (0.4)	4.9 (0.4)	-0.3 a 0.2	0.541
Insulin (mUI/L)	8.1 (5.5)	15.0 (8.8)	-11.6 a -2.3	0.005
HOMA-IR	1.8 (1.2)	3.3 (1.9)	-2.6 a -0.5	0.004

2.2. Lipids

TC and TAG in MU were higher than MH at baseline and post intake. Figure 52 shows the effects of the HFM and HFM+S intake on serum TC (a), HDL-C (b) and TAG (c). The addition of SIO attenuated the increase of TC in the MH group

[$iAUC_{HFM}$: 0.27mmol/L/4h (IQR:-0.07/0.81); $iAUC_{HFM+S}$: -0.18 mmol/L/4h (IQR: -0.49/0.31) $p=0.037$], as shown in Figure 51 (d).

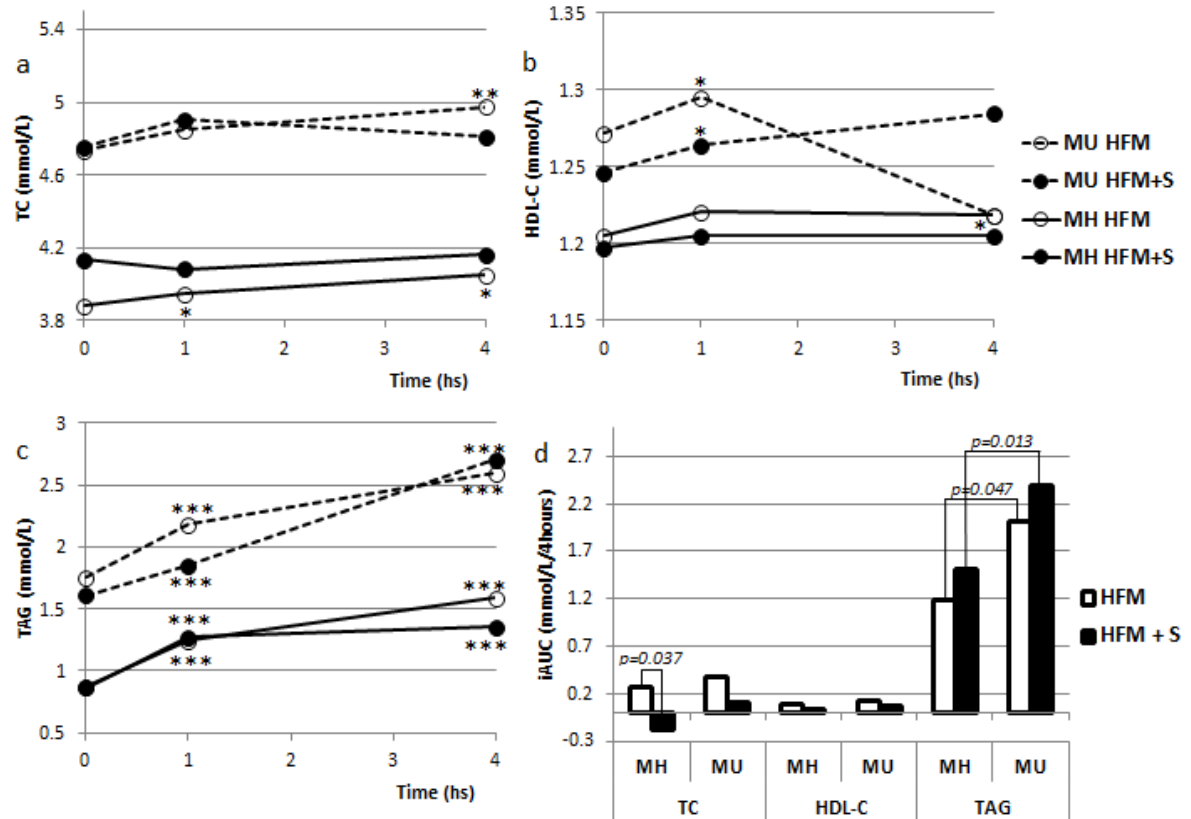


Figure 52. Effect of HFM and HFM+S intake on fasting and postprandial concentrations of the plasma total cholesterol (a), HDL-cholesterol (b), triacylglycerides (c), and iAUC of lipid profiles (d), in MH group (n=20) and MU group (n=22).

All the values are shows as medians. The HFM intake is in open circles and bars and the HFM+S intake is in black ones. The continuous line indicates the MH group, while the discontinue line indicates the MU group. * corresponds to significant differences, respect to fasting: * $p<0.05$; and *** $p<0.001$.

2.3. Inflammation biomarkers

In contrast to the circulating concentrations of IL-6, the expression of this cytokine in PBMC increased in the MH group with both interventions [$FC_{HFM}=+1.59$ (IQR:-3.95/2.77) and $FC_{HFM+S}=+1.41$ (IQR:-1.30/2.98)].

In MH, SIO was associated with IL-6 decrease in serum ($p=0.001$). Basal hs-CRP levels were similar between groups, but trending towards higher values in the postprandial stage, with higher increases in the MU group. SIO consumption did not modify significantly hs-CRP response in any group (Figure. 53).

In MU, the addition of SIO attenuated the LPS increase produced by HFM intake [LPS_{HFM} : 1.15EU/mL (IQR: 0.81/1.66); LPS_{HFM+S} : 1.04EU/mL (IQR: 0.59/1.31) $p=0.031$] and suppressed the post HFM correlations between the TAG and LPS concentrations up to 4 hours ($r= 0.568$; $p=0.006$).

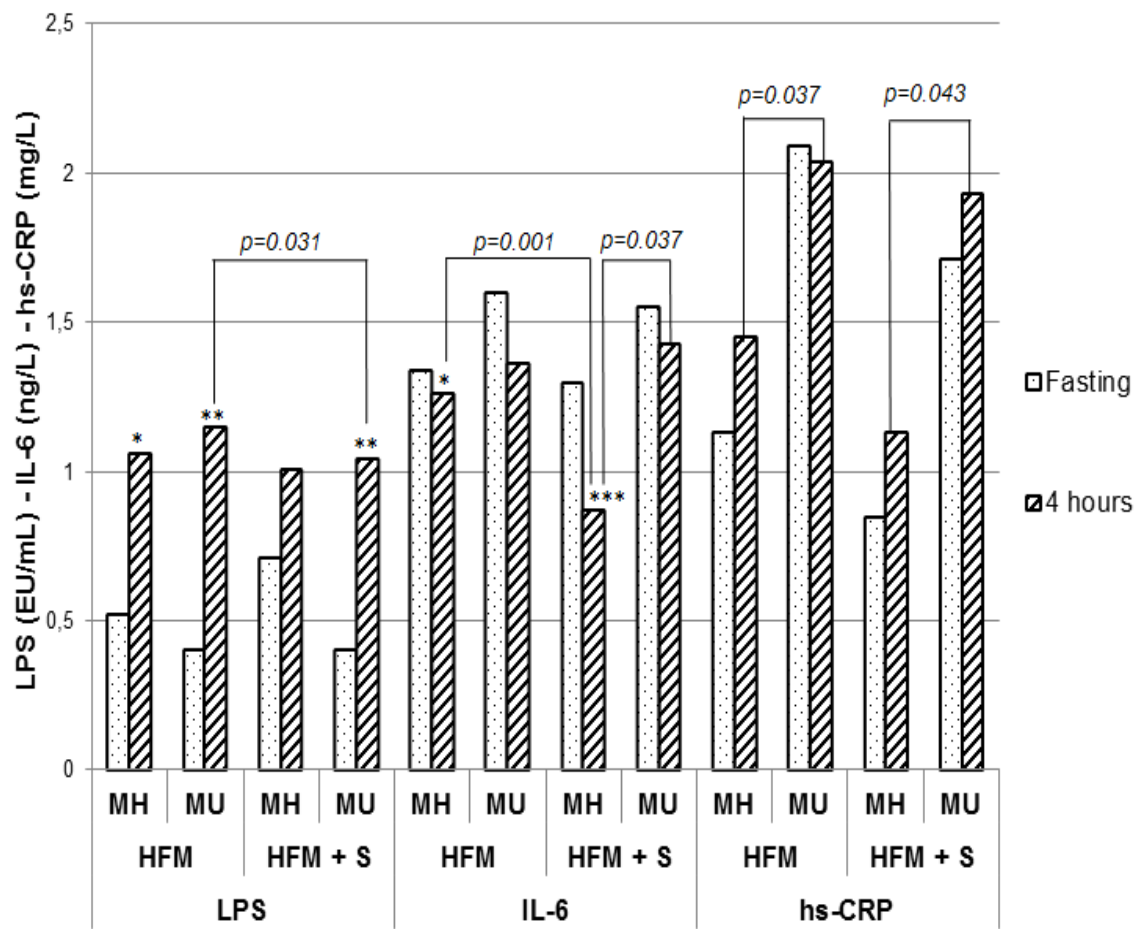


Figura 53. The effect of both treatments on fasting and postprandial inflammation variables into metabolically healthy (MH / $n=20$) and unhealthy (MU / $n=22$) groups.

Bars indicate median values. Asterisks mark (*) corresponds to significant differences, respect to fasting: * $p<0.05$; ** $p<0.01$, and *** $p<0.001$.

In the MU group, the expression decreased after SIO [(FC_{HFM}= -1.19 (IQR:-1.72/1.93) and FC_{HFM+S}=-1.83 (IQR:-4,82/-0.01), p=0.017] and SIO intake annulled the correlation between LPS increasing and IL-6 expression observed after HFM intake (r=0.729; p= 0.005).

3. DISCUSSION

SIO is a powerful source of PUFAs and polyphenols, and its intake has been related to improving of lipid and inflammatory markers. However, according with our knowledge, this is the first evidence about its postprandial effects related to its use as a supplement of a high fat meal, in individuals with different metabolic status.

The adding of SIO reduced the TC increase in both groups and reversed it in MH group, but it had a null effect on HDL-C and TAG. Probably, the effects related to the HDL-C increase and TAG decrease previously reported (Gonzales *et al.*, 2014a; Huamán *et al.*, 2012; Gamarra *et al.*, 2015) could be explained by its consumption for longer periods in those studies.

In agreement with other studies, fasting hs-CRP levels were similar between groups, but trending towards higher values in the postprandial stage, with higher increases in the MU group (Shrivastava *et al.*, 2015; Wagmaker *et al.*, 2015; Demmer *et al.*, 2016). These results are consistent with higher levels of chronic inflammation in subjects with worse metabolic status. The adding of SIO did not affect hs-CRP.

However, SIO intake was associated with IL-6 decrease in serum, principally for the MH group probably due to a higher sensitivity to anti-inflammatory action in the absence of metabolic disorders (Vankova *et al.*, 2016). This is the first study to show the effect of SIO on IL-6 levels on postprandial stages, although similar results have been reported with chronic supplements using other n-3 fatty acids (Kiecolt *et al.*, 2012). The increase of this marker reported in previous studies had been related to the local inflammatory reaction derived from sample collection (Thompson *et al.*, 2009; Haack *et al.*, 2002) rather than a true postprandial response. Such possibility was controlled in our study by the procedure used in the sample collection.

In MU group, SIO consumption attenuated LPS increase and suppressed the correlation between LPS and TAG. It could reflect an inhibitory effect of PUFAs on LPS entry into circulation, as reported in animals (Mani *et al.*, 2013) and human (Kell *et al.*, 2015; Lyte *et al.*, 2016; Schwander *et al.*, 2014), even in the presence of high triacylglycerides levels. This effect could be depended of the metabolic status, with better outcomes in presence of the features of the metabolic syndrome.

Only in the MH group, SIO produced a meaningful IL-6 decrease in circulating concentration, but the effect on PBMC expression was low. It suggests that IL-6 levels in serum do not always reflect production in circulating monocytes, as same as found Jimenez *et al* (2009). Adipose and muscle tissues are involved in metabolism of this cytokine and they have shown sensitivity to postprandial stage and dependency on metabolic status, hence, their contributions could explain the observed results (Travers *et al.*, 2017; Gregersen *et al.*, 2012). By contrast, in the MU group, SIO was more effective in IL-6 expression decreasing in PBMC ($p=0.017$). In this group, correlation between LPS increasing and IL-6 expression observed after HFM intake was lost. This effect could be explained by a different response due to their metabolic condition or could be related to its effect on LPS entry from the gut, previously mentioned. This raises important questions for further investigations.

The strength of our study is the design of a meal with similar organoleptic and similar caloric local food features, in order to simulate the effect of SIO as a dietary supplement. A standardized protocol for preparation of all components of the breakfast meal ensured the homogeneity of the interventions and the absence of preservatives or flavoring additives. The absence of desertion in this study preserved statistical power and ensured the validity of our results and we controlled the possibility of an increase of IL-6 derived from sample collection.

The limitations include the difficulty to control variables such as lifestyle of the subjects, aspects minimized by rigorous selecting. In order to reduce hormonal bias, the sample comprised only male subjects; however, it limits direct extrapolation of results to female subjects.

In conclusion, adding SIO to a high fat meal attenuates TC increase and reversed TC increased in the MH group. Nevertheless, it does not modify HDL-C levels nor postprandial TAG increase. In relation to inflammation, in the MH group, intake of SIO significantly decreased IL-6 levels in serum. In MU group SIO intake reduced LPS increase and IL-6 expression, even so did not alter hs –CRP. These findings suggest that the effects of a high fat meal on postprandial lipids and inflammation could be modified by the addition of SIO, but the outcomes depend of the metabolic status.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to express their gratitude to Dr. Harry Pachajoa Londoño, to Flavio Cerón Betancourth and Leidy Lorena Diaz, members of Genomic Medicine Laboratory of ICESI University, for their ongoing collaboration and to participants who made this work possible.

Funding: This study was supported by ICESI University and University of San Buenaventura.

REFERENCES

Badoud F, Lam KP, Perreault M, Zulyniak MA, Britz P, Mutch DM. 2015. Metabolomics reveals metabolically healthy and unhealthy obese individuals differ in their response to a caloric challenge. *PLoS ONE* **10**. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0134613>

Borén B, Matikainen N, Adiels M, Taskinen M. 2014. Postprandial hypertriglyceridemia as a coronary risk factor. *Clin Chim Acta* **431**, 131-142. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2014.01.015>

Carstensen M, Thomsen C, Hermans K. 2003. Incremental area under response curve more accurately describes the triglyceride response to an oral fat load in both healthy and type 2 diabetic subjects. *Metabolism* **52**, 1034-1037. [http://dx.doi.org/10.1016/S0026-0495\(03\)00155-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0026-0495(03)00155-0)

Chirinos R, Zuloeta G, Pedreschi R, Mignolet E, Larondelle Y, Campos D. 2013. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidant capacity. *Food Chemistry* **141**, 1732–1739.

Demmer E, Van Loan MD, Rivera N, Rogers TS, Gertz ER, German JB, *et al.* 2016. Consumption of a high-fat meal containing cheese compared with a vegan alternative lowers postprandial C-reactive protein in overweight and obese individuals with metabolic abnormalities: a randomized controlled cross-over study. *J Nutr Sci* **5**, e9. <http://dx.doi.org/10.1017/ins.2015.40>

Derosa G, Cicero AFG, D'Angelo A, Borghi C, Maffioli P. 2016. Effects of n-3 PUFAS on fasting plasma glucose and insulin resistance in patients with impaired fasting glucose or impaired glucose tolerance. *BioFactors* **42**, 316-322. <http://dx.doi.org/10.1002/biof.1277>

Gamarra M, Flores B, Palacios F. 2015. Efecto hipolipemiante del aceite de Sacha Inchi en adultos con hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia de 35-64 años, Nuevo AA.HH. Nueva Alianza, Chaclacayo, Lima. *Revista Científica de Ciencias de la Salud* **8**, 44-50.

Garmendia F, Pando R, Ronceros G. 2011. Efecto del aceite de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L) sobre el perfil lipídico en pacientes con hiperlipoproteinemia. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* **28**, 628-632. <http://dx.doi.org/10.1590/S1726-46342011000400009>

Gonzales GF, Gonzales C. 2014. A randomized, double-blind placebo-controlled study on acceptability, safety and efficacy of oral administration of sachá inchi oil (*Plukenetia volubilis* L.) in adult human subjects. *Food Chem Toxicol* **65**, 168-176. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.12.039>

Gonzales GF, Gonzales C, Villegas L. 2014a. Exposure of fatty acids after a single oral administration of Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) and sunflower oil in human adult

subjects. *Toxicol Mech Methods* **24**, 60-69.
<http://dx.doi.org/10.3109/15376516.2013.850566>

Gregersen S, Samocha D, Heilbronn LK, Campbell LV. 2012. Inflammatory and oxidative stress responses to high-carbohydrate and high-fat meals in healthy humans. *J Nutr Metab*. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/238056>

Guerci B, Paul JL, Hadjadj S, Durlach V, Vergés B, Attia N, et al. 2001. Analysis of the postprandial lipid metabolism: use of a 3-point test. *Diabetes Metab* **27**, 449-457. <http://dx.doi.org/DM-09-2001-27-4-1262-3636-101019-ART4>

Guess N, Perreault L, Kerege A, Strauss A, Bergman BC. 2016. Dietary fatty acids differentially associate with fasting versus 2-hour glucose homeostasis: implications for the management of subtypes of prediabetes. *PLoS One* **11**.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0150148>

Haack M, Kraus T, Schuld A, Dalal M, Koethe D, Pollmacher T. 2002. Diurnal variations of interleukin-6 plasma levels are confounded by blood drawing procedures. *Psychoneuroendocrinology* **27**, 921-931. [http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4530\(02\)00006-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0306-4530(02)00006-9)

Herieka M, Erridge C. 2014. High-fat meal induced postprandial inflammation. *Mol Nutr Food Res*. **58**, 136-146. <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201300104>

Huamán J, Chávez K, Castañeda E, Carranza S, Chávez T, Beltran Y, et al. 2008. Efecto de la *Plukenetia volubilis* Linneo (Sacha inchi) en la trigliceridemia posprandial. *An Fac Med* **69**, 263-266.

Huamán JJ, Fogel BE, Escobar PI, Castillo KY. 2012. Efectos de la ingesta de *Plukenetia volubilis* Linneo o "Sacha inchi" en el perfil lipídico de adultos jóvenes. *Acta méd peruana* **29**, 155-160.

Jiménez Y., López J., Blanco L.M., Marín C., Pérez P., Ruano J., et al. 2009. Olive oil and walnut breakfasts reduce the postprandial inflammatory response in mononuclear cells compared with a butter breakfast in healthy men. *Atherosclerosis*, **204**, e70-e76. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.09.011>

Kell DB, Pretorius E. 2015. On the translocation of bacteria and their lipopolysaccharides between blood and peripheral locations in chronic, inflammatory diseases: the central roles of LPS and LPS-induced cell death. *Integr Biol* **7**, 1339-1377. <http://dx.doi.org/10.1039/c5ib00158g>

Kiecolt JK, Belury MA, Andridge R, Malarkey WB, Hwang BS, Glaser R 2012. OMEGA-3 Supplementation Lowers Inflammation in Healthy Middle-Aged and Older Adults: A Randomized Controlled Trial. *Brain Behav Immun* **26**, 988-995. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2012.05.011>

Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-DDCT} method. *Methods* **25**, 402-408. <http://dx.doi.org/10.1006/meth.2001.1262>

Lyte JM, Gabler NK, Hollis JH. 2016. Postprandial serum endotoxin in healthy humans is modulated by dietary fat in a randomized, controlled, cross-over study. *Lipids Health Dis* **15**, 186. <http://dx.doi.org/10.1186/s12944-016-0357-6>

Mani V, Hollis J, Gabler N. 2013. Dietary oil composition differentially modulates intestinal endotoxin transport and postprandial endotoxemia. *Nutr Metab* **10**, 6. <http://dx.doi.org/10.1186/1743-7075-10-6>

Schwander F, Kopf KA, Buri C, Portmann R, Egger L, Chollet M, *et al.* 2014. A dose-response strategy reveals differences between normal-weight and obese men in their metabolic and inflammatory responses to a high-fat meal. *J Nutr* **144**, 1517-1523. <http://dx.doi.org/10.3945/jn.114.193565>

Shrivastava AK, Singh HV, Raizada A, Singh SK. 2015. C-reactive protein, inflammation and coronary heart disease. *The Egyptian Heart Journal* **67**, 89-97. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ehj.2014.11.005>

Thompson D, Dixon N. 2009. Measurement of postprandial interleukin-6 by using a catheter: what does it tell us? *Am J Clin Nutr* **90**, 1446-1447 <http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.2009.28460>

Travers RL, Motta AC, Betts JA, Thompson D. 2017. Adipose tissue metabolic and inflammatory responses to a mixed meal in lean, overweight and obese men. *Eur J Nutr* **56**, 375-385. <http://dx.doi.org/10.1007/s00394-015-1087-7>

Vankova D, Nazifova N, Kiselova Y, Ivanova D. 2016. Stress-tolerance tests and postprandial low-grade inflammation response. *Scripta Scientifica Pharmaceutica* **3**, 34-38. <http://dx.doi.org/10.14748/ssp.v1i1.1733>

Vors C, Pineau G, Draï J, Meugnier E, Pesenti S, Laville M, *et al.* 2015. Postprandial endotoxemia linked with chylomicrons and LPS handling in obese vs lean men: a lipid dose effect trial. *J Clin Endocrinol Metab* **100**, 3427-3435. <http://dx.doi.org/10.1210/JC.2015-2518>

Wagmacker DS, Petto J, Silva FL, dos Santos ACN, Ladeia AMT. 2015. C-reactive protein in the initial phase of postprandial lipemia in subjects with central obesity. *Int. J Cardiovasc Sci* **28**, 9-15. <http://dx.doi.org/10.5935/2359-4802.20150003>

5. DISCUSIÓN GENERAL DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos con esta investigación permiten evidenciar que el agregado de 15 mL de aceite de Sacha inchi a una comida rica en grasas logra modificar parte de los efectos postprandiales derivados de dicha ingesta, sin embargo, los cambios que se producen son cuali y cuantitativamente diferentes, dependiendo del estado metabólico del individuo.

Sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, el agregado del aceite muestra efectos antagónicos. En una parte de los participantes incrementa la descarga insulínica y la concentración de glucosa circulante, lo que se ve reflejado en una disminución significativa de los índices de sensibilidad a la hormona. Este grupo, sorprendentemente, presentaba valores en ayunas más saludables, que incluían concentraciones más bajas de TAG.

El resto del grupo, responde al agregado del aceite con escaso incremento en las concentraciones de glucosa y menores relaciones insulina/glucosa, lo que permite estimar una tendencia hacia la mejora de la sensibilidad a la insulina, aunque los índices no se modificaron en magnitud estadísticamente significativamente.

Estos hallazgos coincidirían con los mínimos efectos reportados para la prevención de diabetes mellitus, relacionados con la ingesta de ácidos grasos ω -3, de fuentes marinas y vegetales [9] y con los reportes de metanálisis de estudios de intervenciones con ácidos grasos de diversos orígenes [157]. Los efectos observados resultan coherentes con las evidencias reportadas, las cuales indican que la inclusión dietaria de PUFA parecen tener un efecto positivo en la prevención de la enfermedad crónica, por acción del ácido graso original, o previa conversión a ácidos grasos de cadena más larga, como el EPA y el DHA.

Sin embargo, sería importante destacar que la presencia de LDL pequeñas y densas enriquecidas en PUFA y alojadas en el espacio abluminal en presencia de oxígeno y metales como el Fe^{++} o el Cu^{++} , podrían ser susceptibles de peroxidación que es el primer paso en la formación de células espumosas y eventualmente progresar a estría grasa y placa ateromatosa. La presencia de antioxidantes presentes en el aceite de Sacha Inchi muy posiblemente podría ser útil para amortiguar este efecto, tal como ha sido reportado por otros autores [158], una vez fueran incluidos en las lipoproteínas o hubieran podido alcanzar dicho espacio, situación cuya elucidación excede el alcance del presente estudio y deberá ser abordada en investigaciones posteriores.

En personas con diabetes mellitus tipo 2, un metanálisis reciente mostró que la ingesta de ALA sostenida por varios meses no parece afectar los indicadores de insulinoresistencia, sin embargo sus concentraciones correlacionan con mejores niveles de hemoglobina glicosilada A1C. Este mismo artículo refiere una

inexplicable alta heterogeneidad la cual limita el alcance de sus conclusiones, aspecto que resulta ser congruente con nuestros resultados, y pone de manifiesto el elevado número de variables que influyen en los efectos derivados de estas intervenciones [159].

Un estudio que comparó el efecto postprandial de una carga grasa control, frente a otra con un discreto aumento de MUFA y PUFA, solo mostró una leve mejora en los índices de sensibilidad con esta última, aunque sin diferencias significativas [11], lo que contrasta con lo reportado por Bermúdez y cols, quienes hallaron mejoras significativas en los indicadores de sensibilidad, relacionadas con el contenido de ALA, inclusive en presencia de niveles elevados de TAG [73]. Las diferencias en los diseños, incluyendo el contenido de MUFA, la consistencia y composición de los alimentos y la muestra incluida, en los diferentes estudios, podrían estar impidiendo la adecuada comparación de los resultados.

Niveles superiores de ALA en tejido adiposo se han visto relacionados con mejores niveles de sensibilidad a insulina, especialmente en personas sin obesidad abdominal, lo que ha permitido sugerir su inclusión en las dietas de las personas delgadas para prevenir el desarrollo de resistencia a insulina [73], no obstante nuestros resultados parecen indicar que los efectos de la suplementación con el aceite están afectados por múltiples condiciones metabólicas, además del peso corporal, razón por la cual los beneficios de su consumo deberán ser considerados dependiendo de la presencia de condiciones tales como el sobrepeso, la obesidad, la resistencia a insulina o las dislipidemias.

Es más, el desarrollo de insulinoresistencia podría ser parte de una respuesta derivada de mecanismos de adaptación desarrollados por el hombre primitivo para hacer frente a estados de estrés o hambruna [160], o ser parte de la estrategia para evitar la apoptosis de las células como consecuencia del aumento desmedido del ingreso y depósito de glucosa, lípidos o metabolitos derivados de éstos [26].

De acuerdo con lo anterior, el aumento de insulinoresistencia que observamos en individuos más saludables podría ser entendido como una manera de hacer frente a la sobrecarga grasa, retrasando o impidiendo el ingreso de la glucosa a los tejidos, en aras de proteger las células, aunque no puede descartarse que refleje un verdadero efecto deletéreo sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, efecto que podría cuestionar su uso en personas saludables.

Un hallazgo interesante fue la correlación positiva hallada entre la expresión de SIRT-1 y el índice de sensibilidad a insulina, verificada en el grupo que atenuó el aumento glucémico tras el agregado del aceite. Lo anterior resulta coherente con la relación reportada entre la activación de esta enzima y las mejoras del metabolismo de glúcidos [161], por lo que nuestros hallazgos sugieren que la tendencia hacia el incremento de la sensibilidad a insulina, en el grupo con

indicadores basales menos saludables, podría estar mediada por cambios en la expresión de esta desacetilasa, estableciendo un posible enlace entre ambos eventos, lo cual deberá ser explorado en estudios posteriores.

Nuestros resultados no mostraron diferencias significativas en la expresión de SIRT-1 en PBMC, al comparar según la presencia de salud metabólica u obesidad, a diferencia de varios estudios que han reportado menores expresiones en personas con síndrome metabólico o resistencia a insulina [6, 162].

Aunque no se ha descartado que ALA actúe directamente, su mayor actividad se ha relacionado con su capacidad de convertirse en EPA y DHA. Esta conversión requiere del concurso de enzimas desaturasas delta 5 y 6 y elongasas. Aunque el aumento en la ingesta de ALA se ha visto reflejado en incrementos de EPA y DHA, la tasa es baja, aproximadamente de 0.2% to 8% para EPA y de 0.05–4% para DHA y además depende del tipo de variante genética de las enzimas mencionadas [163] y de su grado de actividad, todo esto relacionado con el estado metabólico [164].

El hecho de que la capacidad de metabolizar ALA y convertirlo en estos derivados activos se relacione con el estado metabólico, agrega nuevas variables individuales que pueden contribuir a explicar la elevada heterogeneidad de los resultados, a la vez que soporta la diferencia de respuestas al agregado del aceite en presencia de distintos estados metabólicos.

Sobre el metabolismo lipídico, los resultados más prometedores involucran la disminución de las concentraciones de colesterol total y no HDL, más notorio en los individuos metabólicamente más saludables, condición que podría proveer un mejor escenario para el efecto del agregado del aceite. En caso contrario, la presencia de fallas metabólicas parece prevalecer y contrarrestar los efectos favorables de la intervención, de manera similar a lo reportado para la resistencia a insulina [76]. A diferencia de lo hallado por otros autores [15,124,165], la adición del aceite no incrementó el HDL-colesterol ni logró una disminución significativa de TAG. Es probable que estos efectos puedan requerir consumos durante un mayor periodo, y no ser evidenciables en evaluaciones agudas postprandiales como las de este trabajo.

En lo que respecta a inflamación, el grupo con metabolismo menos saludable mostró mayores concentraciones de PCR en condiciones basales, como era esperable, pero el aumento postprandial no logró verse afectado por el agregado del aceite, lo que podría deberse a la ausencia real de efecto o a una cinética de producción de PCR que no permitiera evidenciar cambios en los tiempos evaluados.

El agregado de SIO se asoció con disminución de los niveles de IL-6 en mayor magnitud en ausencia de desórdenes metabólicos (grupo MH), lo que podría

deberse a una mayor sensibilidad a los efectos antiinflamatorios de los componentes del aceite o ser derivados de una mejor acción insulínica [166,167]. La disminución de IL-6 verificada tras la ingesta de ambos alimentos y con mayor magnitud en ausencia de obesidad y alteraciones metabólicas, podría ser parte del control de su función tradicional inflamatoria, en etapas postprandiales tempranas, en las cuales el medio circulante se caracteriza por aumento de TAG y LPS.

En todo caso, las precauciones tomadas durante el proceso de sangrado, parecen confirmar que los aumentos reportados en otros estudios pudieron deberse a aportes foráneos derivados de la inflamación regional derivada de la punción. No podría descartarse, sin embargo, que cifras aumentadas pudieran relacionarse con las actividades antiinflamatorias y de resolución de la inflamación que se le han adjudicado a esta citocina, lo que obliga a analizar con precaución los cambios en sus concentraciones circulantes [168].

En presencia de alteraciones metabólicas (MU), SIO atenúa el aumento de LPS al tiempo que suprime la correlación que se había verificado entre las concentraciones de LPS y TAG 4 horas post ingesta de HFM. Este hallazgo es interesante, toda vez que el ingreso de LPS se ha considerado vinculado a la formación de quilomicrones, los cuales son encargados de transportar los TAG provenientes de la comida. La atenuación del aumento de LPS y el cambio de su dependencia respecto a la concentración de TAG podrían ser reflejo de la acción del aceite en intestino, interfiriendo en el ingreso o posterior metabolización de los quilomicrones y los LPS que ellos acarrean. En todo caso, este efecto podría resultar beneficioso en aras de disminuir la endotoxemia postprandial y la ola inflamatoria derivada, especialmente en presencia de alteraciones metabólicas. La expresión de IL-6 en PBMC, por su parte, disminuyó en este grupo, lo que resulta coherente con la atenuación de LPS y con la disminución de IL-6 circulante. Sumado a lo anterior, en este grupo SIO también actúa suprimiendo la correlación positiva entre la concentración de LPS y la expresión de IL-6 que se había observado con la ingesta de HFM.

En el grupo de personas saludables, la disminución de IL-6 fue mayor tras el agregado del aceite, sin embargo no pudo evidenciarse relación alguna con los niveles de TAG, LPS o su expresión en PBMC.

Lo anterior sugiere que, en presencia de desordenes metabólicos, el agregado del aceite de Sacha inchi pudiera actuar previniendo la expresión de IL-6 en PBMC, a través de acciones que parecen involucrar el ingreso de LPS, no obstante esta hipótesis deberá ser contrastada en futuros estudios, al igual que las razones por las que este efecto solo pudo ser observado en personas menos saludables.

6. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir que:

1. Además de los valores en ayunas que evidencian insulinoresistencia, hipertriacilgliceridemia y mayor concentración de proteína C reactiva, la presencia de obesidad abdominal se relaciona con un mayor aumento de glucosa, insulinoresistencia y triacilglicéridos tras la ingesta de una comida rica en grasas, situación en la cual la hipertriacilgliceridemia en ayunas se muestra como uno de los determinantes del aumento de triacilglicéridos postprandiales. El consumo de grasas aumenta los niveles de lipopolisacáridos en circulación, independientemente de la presencia de obesidad, lo que podría contribuir al desarrollo de inflamación.
2. El agregado del aceite de Sacha inchi modifica las respuestas metabólica e inflamatoria producidas por la ingesta de una comida rica en grasas, pero sus efectos se relacionan con el estado metabólico de la persona.
3. El agregado del aceite produce respuestas postprandiales antagónicas respecto a la sensibilidad a insulina, con mejora de la misma en aquellos sujetos con estados metabólicos menos saludables y que experimentaron mayores incrementos glucémicos luego de la ingesta del alimento rico en grasas. El mecanismo parece involucrar una mayor expresión de SIRT-1.
4. Los efectos del aceite sobre el mejoramiento del perfil lipídico y la concentración de IL-6 parecen resultar más favorables en los individuos con mejor estado metabólico basal.
5. Los efectos del agregado de aceite de sachá inchi sobre variables inflamatorias parecen estar relacionados con su capacidad para interferir la relación entre el aumento de LPS y el incremento de TAG y con la atenuación del aumento de LPS, en presencia de alteraciones metabólicas.
6. La concentración de IL-6 disminuye tras la ingesta de ambos alimentos, en mayor proporción tras el agregado del aceite y en ausencia de alteraciones metabólicas. Los cambios de la expresión en PBMC no siempre se reflejan en las concentraciones circulantes.
7. La inclusión de determinaciones del periodo postprandial, incluyendo los cambios en expresión genética de leucocitos circulantes, podría aportar nuevas estrategias en el diagnóstico, prevención y seguimiento de las enfermedades cardiovasculares.

BIBLIOGRAFIA

1. World Heart Federation [Internet]. Cardiovascular diseases 2017 [citado 11 de septiembre de 2017]. Recuperado a partir de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>
2. Welsh P, Grassia G, Botha S, Sattar N, Maffia P. Targeting inflammation to reduce cardiovascular disease risk: a realistic clinical prospect? *Br J of Pharmacol.* 2017;174:3898-913. doi:10.1111/bph.13818
3. Kell DB, Ethersia Pretorius E. (2015) On the translocation of bacteria and their lipopolysaccharides between blood and peripheral locations in chronic, inflammatory diseases: the central roles of LPS and LPS-induced cell death. *Integr. Biol.* 2015;7:1339-77. doi: 10.1039/c5ib00158g
4. Breitenstein A, Wyss CA, Spescha RD, Franzeck FC, Hof D, Riwanto M. et al. Peripheral blood monocyte sirt-1 expression is reduced in patients with coronary artery disease. *PLoS ONE.* 2013;8(1):e53106. doi:10.1371/journal.pone.0053106
5. Cao Y, Jian X, Ma H, Wang Y, Xue P, Liu Y. SIRT1 and insulin resistance. *J Diabet Complications.* 2016;30(1):178-83 doi:10.1016/j.jdiacomp.2015.08.022
6. Kreutzenberg SV, Ceolotto G, Papparella I, Bortoluzzi A, Semplicini A, Man CD, et al. Downregulation of the longevity-associated protein sirtuin 1 in insulin resistance and metabolic syndrome: potential biochemical mechanisms. *Diabetes.* 2010;59(4):1006-15. doi: 10.2337/db09-1187
7. Olefsky JM, Glass CK. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annu. Rev. Physiol.* 2010;72:219-46. doi: 10.1146/annurev-physiol-021909-135846
8. Karpe F, Dickmann JR, Frayn KN. Fatty Acids, obesity, and insulin resistance: Time for a reevaluation. *Diabetes.* 2011;60:2441-9. doi: 10.2337/db11-0425
9. Wu JH, Micha R, Imamura F, Pan A, Biggs ML, Ajaz O, et al. Omega-3 fatty acids and incident type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr.* 2012;107(Suppl2):S214-27. doi: 10.1017/S0007114512001602
10. Arner P, Rydén M. Obesity and Insulin Resistance. *Obes Facts.* 2015;8(2):147-55. doi: 10.1159/000381224

11. Aguado-Barrios A, Navas-Carretero S, Zulet MA, Martínez JA. Un postre lácteo con un perfil lipídico modificado modula los niveles posprandiales de ApoB y puede promover la sensibilidad a la insulina en adultos sanos. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia* 2014;80(3):624-36
12. Hurtado ZA, Benítez R (dir), López K (codir). Análisis composicional de la torta y aceite de semillas de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*) cultivada en Colombia. [trabajo de grado en Internet]. [Bogotá]: Universidad Nacional; 2013 [citado 20 de noviembre de 2017]. Recuperado a partir de: <http://www.bdigital.unal.edu.co/12689/1/7609501.2013.pdf>
13. Chirinos R, Zuloeta G, Pedreschi R, Mignolet E, Larondelle Y, Campos D. (2013). Sachá inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidant capacity. *Food Chem.* 2013;141(3):1732-9. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.04.078
14. Garmendia F, Pando R, Ronceros G. Efecto del aceite de Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* L) sobre el perfil lipídico en pacientes con hiperlipoproteínemia. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2011;28(4):628-32. doi: 10.1590/S1726-46342011000400009
15. Gonzales GF, Gonzales C, Villegas L. Exposure of fatty acids after a single oral administration of sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) and sunflower oil in human adult subjects. *Toxicol Mech Methods.* 2014;24(1):60-9. doi: 10.3109/15376516.2013.850566
16. Departamento Nacional de Planeación. [Internet]. Bases del Plan Nacional de Desarrollo 2014-2018 [citado 26 de octubre 2017]. Recuperado a partir de: <https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Prensa/Bases%20Plan%20Nacional%20de%20Desarrollo%202014-2018.pdf>.
17. Mozaffarian D. Global Scourge of Cardiovascular Disease. *JACC.* 2017;70(1):26-8. doi: 10.1016/j.jacc.2017.05.007
18. López P, López J. Lecciones aprendidas de dos grandes estudios epidemiológicos de enfermedades cardio-cerebro-vasculares en las que ha participado Colombia. *Rev. Colomb. Cardiol.* 2010;17(5):195-200. doi: 10.1016/S0120-5633(10)70240-0

19. Acosta K. La obesidad y su concentración según nivel socioeconómico en Colombia. *Revista de Economía del Rosario*. 2013;16(2):171-200 doi:10.12804/revistas.urosario.edu.co/economia/a.3330
20. Martínez D, Torres W. Departamento Administrativo Distrital de Salud de Cartagena. Perfil epidemiológico enfermedades interés en salud pública 2015. [Internet] 2015 [citado 20 de noviembre de 2017]. Recuperado a partir de: http://www.dadiscartagena.gov.co/images/docs/saludpublica/perfil_epidemiologico_2015_1.pdf
21. Manzur F, Alvear C, Alayón A. El perfil epidemiológico del sobrepeso y la obesidad y sus principales comorbilidades en la ciudad de Cartagena de Indias. *Rev. Colom. Cardiol*. 2009;16(5):194-200
22. Saenz S, Gonzalez F, Diaz S. Hábitos y trastornos alimenticios asociados a factores socio-demográficos, físicos y conductuales en universitarios de Cartagena, Colombia. *Rev Clin Med Fam*. 2011;4(3):193-204. doi: 10.4321/S1699695X20110003
23. Alcaldía Distrital de Cartagena de Indias D. T. y C. Plan de Desarrollo Primero la gente 2016-2019. 2016 [citado 25 de noviembre de 2017]. Recuperado a partir de: <http://www.cartagenacomovamos.org/nuevo/wp-content/uploads/2016/03/DOCUMENTO-BASE-PLAN-DE-DESARROLLO-PRIMERO-LA-GENTE.pdf>.
24. Departamento Nacional de Planeación. Política de atención a población víctima. Construcción de paz y post-conflicto. [citado 27 de mayo de 2017]. Recuperado a partir de: <https://www.dnp.gov.co/politicas-de-estado/politica-de-atencion-a-victimas/Paginas/Construcci%C3%B3n-de-paz-y-postconflicto.aspx>
25. Grundy SM. Pre-diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59:635-43. doi:10.1016/j.jacc.2011.08.080
26. Welty FK, Alfaddagh A, Elajami TK. Targeting inflammation in metabolic syndrome. *Translational Research*. 2016;167(1):257-80. doi: 10.1016/j.trsl.2015.06.017
27. Badoud F, Lam KP, Perreault M, Zulyniak MA, Britz-McKibbin P, Mutch DM. Metabolomics reveals metabolically healthy and unhealthy obese individuals differ in their response to a caloric challenge. *PLoS ONE*. 2015;10(8). doi:10.1371/journal.pone.0134613.

28. Gustafson B, Hedjazifar S, Gogg S, Hammarstedt A, Smith U. Insulin resistance and impaired adipogenesis. *Trends Endocrinol Metab.* 2015;26(4):193-200. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tem.2015.01.006>
29. Nicolalde TM, Guevara MS, Betancourt SL. Obesidad visceral, razón masa grasa/masa muscular y dislipidemia aterogénica: estudio transversal realizado en Riobamba, Ecuador. *Rev Esp Nutr Hum Diet.* 2015;19(3):140-5. doi: 10.14306/renhyd.19.3.154
30. García D, Castellanos M, Cedeño R, Benet M, Ramírez I. Tejido adiposo como glándula endocrina. Implicaciones fisiopatológicas. *Revista Finlay [Internet]* 2011 [citado 5 de 4 septiembre de 2017];1(2). Recuperado a partir de: <http://revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/39>
31. Al-Hamodi Z, AL-Habori MAL, ,Ali Al-Meer A, Saif-Ali R. Association of adipokines, leptin/adiponectin ratio and C-reactive protein with obesity and type 2 diabetes mellitus *Diabetology & Metabolic Syndrome.* 2014;6(1):99. doi: 10.1186/1758-5996-6-99
32. Singh P, Sharma P, Sahakyan KR, Davison DE, Sert-Kuniyoshi FH, Romero-Corral A, et al. Differential effects of leptin on adiponectin expression with weight gain versus obesity. *Int J Obes (Lond).* 2016;40(2):266-74. doi: 10.1038/ijo.2015.181
33. Ong KL, Ding J, Mc Clelland RL, Cheung BM, Criqui MH, Barter PJ, et al. Relationship of pericardial fat with biomarkers of inflammation and hemostasis, and cardiovascular disease: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2015;239(2):386-92. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.01.033
34. Szasz T, Bomfim GF, Webb RC. The influence of perivascular adipose tissue on vascular homeostasis. *Vasc Health Risk Manag.* 2013;9:105-16. doi: 10.2147/VHRM.S33760
35. van Kruijsdijk RC, van der Wall E, Visseren FL. Obesity and Cancer: The Role of Dysfunctional Adipose Tissue. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18(10):2569-78. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0372
36. McArdle MA, Finucane OM, Connaughton RM, McMorrow AM, Roche HM. Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2013;4:52. doi: 10.3389/fendo.2013.00052

37. Dalmas E, Clément K, Guerre-Millo M. Defining macrophage phenotype and function in adipose. *Trends Immunol.* 2011;32(7):307-14. doi: 10.1016/j.it.2011.04.008.
38. Klop B, Proctor SP, Mamo JC, Botham KM, Castro M. (2012). Understanding postprandial inflammation and its relationship to lifestyle behaviour and metabolic diseases. *International Journal of Vascular Medicine.* 2012;1:11. doi: 10.1155/2012/947417
39. Lassenius MI, Pietiläinen KH, Kaartinen K, Pussinen PJ, Syrjänen J, Forsblom C, et al. Bacterial endotoxin activity in human serum is associated with dyslipidemia, insulin resistance, obesity, and chronic inflammation. *Diabetes Care.* 2011;34(8):1809-15. doi: 10.2337/dc10-2197
40. Laugerette F, Vors C, Peretti N, Michalski MC. Complex links between dietary lipids, endogenous endotoxins and metabolic inflammation. *Biochimie.* 2011;93:39-45. doi: 10.1016/j.biochi.2010.04.016
41. Kopal M, Muchova J, Durackova Z. Modulation of insulin resistance by PUFA in metabolic tissues. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2013;115:475-82. doi: 10.1002/ejlt.201200229
42. Catrysse L, van Loo G. Inflammation and the Metabolic Syndrome: The Tissue-Specific Functions of NF- κ B. *Trends Cell Biol.* 2017;27(6):417-29. doi: 10.1016/j.tcb.2017.01.006
43. Baker RG, Hayden MS, Ghosh S. NF- κ B, inflammation and metabolic disease. *Cell Metab.* 2011 Jan 5; 13(1): 11–22. doi: 10.1016/j.cmet.2010.12.008
44. Hoesel B, Schmid JA. The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer* 2013;12:86 doi: 10.1186/1476-4598-12-86.
45. Basain JM, Valdés MC, Pérez M, Martínez A. Activación de los receptores de tipo Toll en el adipocito: su influencia en el inicio y la permanencia de la obesidad. *Medisan.* [Internet]. 2016 [citado 10 de noviembre de 2017];20(7):1017-25. Recuperado a partir de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=368446638015>
46. Maeshima N, Fernandez RC. Recognition of lipid A variants by the TLR4-MD-2 receptor complex. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013;3(3). doi: 10.3389/fcimb.2013.00003
47. Headland SE, Norling LV. The resolution of inflammation: Principles and challenges. *Semin Immunol.* 2015;27(3):149-60. doi: 10.1016/j.smim.2015.03.014

48. Díaz JL, Vera CJ. Bases moleculares de los derivados metabólicos de ácidos omega -3 en el proceso antiinflamatorio. UCV-Scientia. [Internet] 2012. [citado 16 de noviembre de 2016];4(2):175-183. Recuperado de: <http://revistas.ucv.edu.pe/index.php/UCV-SCIENTIA/article/cite/298/ApaCitationPlugin>
49. Gilroy D, De Maeyer R. New insights into the resolution of inflammation. *Semin Immunol.* 2015;27(3):161-8. doi: 10.1016/j.smim.2015.05.003
50. Serhan CN, Chiang NG, Dalli J. The resolution code of acute inflammation: Novel pro-resolving lipid mediators in resolution *Semin Immunol.* 2015;27(3):200-15. doi: 10.1016/j.smim.2015.03.004
51. Paneni F, Costantino S, Cosentino F. Insulin resistance, diabetes, and cardiovascular risk. *Curr Atheroscler Rep.* 2014;16(7):419. doi: 10.1007/s11883-014-0419-z
52. van Greevenbroek MMJ, Schalkwijk CG and Stehouwer CDA. Dysfunctional adipose tissue and low-grade inflammation in the management of the metabolic syndrome: current practices and future advances. *F1000 Research* 2016;5(F1000FacultyRev):2515. doi: 10.12688/f1000research.8971.1
53. Rehman K, Akash MSH. Mechanisms of inflammatory responses and development of insulin resistance: how are they interlinked? *J Biomed Sci.* 2016;23:87. doi: 10.1186/s12929-016-0303-y
54. Khodabandehloo H, Gorgani-Firuzjaee S, Panahi G, Meshkani R. Molecular and cellular mechanisms linking inflammation to insulin resistance and β -cell dysfunction *Transl Res.* 2016;167(1):228-56. doi: 10.1016/j.trsl.2015.08.011
55. Jialal I, Adams-Huet B, Devaraj S. Factors that promote macrophage homing to adipose tissue in metabolic syndrome. *J Diabetes Complications.* 2016;30(8):1434-6. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2016.07.031
56. Leiva E, Wehinger S, Guzmán L, Orrego R. Role of Oxidized LDL in Atherosclerosis
En: Kumar SA, editor. *Hypercholesterolemia.* [Internet] 2015. [citado 22 de mayo de 2017] Cap.3. Recuperado a partir de: <https://www.intechopen.com/books/hypercholesterolemia>
57. Muller WA. How endothelial cells regulate transmigration of leukocytes in the inflammatory response. *Am J Pathol.* 2014;184(4):886-96. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.12.033

58. Muller WA. Transendothelial migration: unifying principles from the endothelial perspective. *Immunol Rev.* 2016;273(1):61-75. doi: 10.1111/imr.12443
59. Yu X, Fu Y, Zhang D, Yin K, Tang CH. Foam cells in atherosclerosis *Clín Chim Acta.* 2013;424:245-52. doi: 10.1016/j.cca.2013.06.006
60. Halade GV. Targeting Resolution of Inflammation Following Myocardial Infarction. *J Cardiol Clin Res.* 2013; 1(2): 1008.
<https://www.jscimedcentral.com/Cardiology/Articles/cardiology-1-1008.php>
61. Bobryshev YV, Ivanova EA, Chistiakov DA, Nikiforov NG, Orekhov AN. Macrophages and their role in atherosclerosis: pathophysiology and transcriptome analysis. *Biomed Res Int.* 2016. doi: 10.1155/2016/9582430
62. Daniele G, Guardado R, Winnier D, Fiorentino TV, Pengou Z, Cornell J, et al. The inflammatory status score including IL-6, TNF- α , osteopontin, fractalkine, MCP-1 and adiponectin underlies whole-body insulin resistance and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 2014;51(1):123-31. doi: 10.1007/s00592-013-0543-1
63. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;105(2):141-50. doi: 10.1016/j.diabres.2014.04.006
64. de Vries MA, Alipour A, Klop B, van de Geijn GJ, Janssenb HW, Njo TL, et al. Glucose-dependent leukocyte activation in patients with type 2 diabetes mellitus, familial combined hyperlipidemia and healthy controls. *Metab Clin Exp.* 2015; 64(2):213-17. doi: 10.1016/j.metabol.2014.10.011
65. Aziz H, Zaas A, Ginsburg GS. Peripheral blood gene expression profiling for cardiovascular disease assessment. *Genomic Med.* 2007;1(3-4):105-12. doi: 10.1007/s11568-008-9017-x
66. Horvath P, Oliver SR, Zaldivar FP, Radom-Aizik S, Galassetti PR. Effects of intravenous glucose and lipids on innate immune cell activation in healthy, obese, and type 2 diabetic subject. *Physiol Rep.* [Internet]. 2015 [citado 26 diciembre de 2016];3(2):e12249. Recuperado a partir de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4393186>
67. Teeman CS, Kurti SP, Cull BJ, Emerson SR, Haub MD, Rosenkranz SK. Postprandial lipemic and inflammatory responses to high-fat meals: a review of the roles of acute and chronic exercise. *Nutr Metab.* 2016;13:80. doi:10.1186/s12986-016-0142-6

68. Molendi-Coste O, Legry V, Leclercq IA. Why and how meet n-3 pufa dietary recommendations? *Gastroenterol Res Pract.* 2011;364040. doi:10.1155/2011/364040
69. Manheimer EW, van Zuuren EJ, Fedorowicz Z, Pijl H. Paleolithic nutrition for metabolic syndrome: systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2015. doi: 10.3945/ajcn.115.113613
70. Wallace M, Morris C, O'Grada CM, Ryan M, Dillon ET, Coleman E, et al. Relationship between the lipidome, inflammatory markers and insulin resistance. *Mol. Biosyst.* 2014;10(6):1586-95. doi:10.1039/c3mb70529c
71. Weylandt KH, Serini S, Chen YQ, Su HM, Lim K, Cittadini A, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids: the way forward in times of mixed evidence. *BioMed Research International.* 2015;143109. doi:10.1155/2015/143109
72. Chang LF, Vethakkan SR, Nesaretnam K, Sanders TA, Teng KT. Adverse effects on insulin secretion of replacing saturated fat with refined carbohydrate but not with monounsaturated fat: A randomized controlled trial in centrally obese subjects. *J Clin Lipidol.* 2016;10(6):1431-41. doi:10.1016/j.jacl.2016.09.006
73. Bermúdez B, Ortega A, Varela LM, Villar J, Abia R, Muriana FJG, et al. Clustering effects on postprandial insulin secretion and sensitivity in response to meals with different fatty acid compositions. *Food Funct.* 2014;5(7):1374-80. doi: 10.1039/c4fo00067f
74. Serhan CN, Petasis NA. Resolvins and Protectins in Inflammation-Resolution *Chem Rev.* 2011; 111(10): 5922–5943. doi: 10.1021/cr100396c
75. Sanhueza J, Durán S, Torres J. Los ácidos grasos dietarios y su relación con la salud. *Nutr Hosp.* 2015;32(3):1362-75. doi:10.3305/nh.2015.32.3.9276
76. Steffen BT, Steffen LM, Zhou X, Ouyang P, Weir NL, Tsai MY. n-3 Fatty acids attenuate the risk of diabetes associated with elevated serum nonesterified fatty acids: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Diabetes Care.* 2015;38(4):575-80. doi:10.2337/dc14-1919
77. Heskey CE, Jaceldo-Siegl K, Sabaté J, Fraser G, Rajaram S. Adipose tissue α -linolenic acid is inversely associated with insulin resistance in adults *Am J Clin Nutr.* 2016;103(4):1105-10. doi: 10.3945/ajcn.115.118935
78. Shakersain B, Santoni G, Larsson SC, Faxen G, Fastbom J, Fratiglioni L, et al. Prudent diet may attenuate the adverse effects of Western diet on cognitive

decline. *Alzheimer's and Dementia*. 2016;12(2):100-109. doi: 10.1016/j.jalz.2015.08.002

79. Skulas-Ray AC, Kris-Etherton PM, Harris WS, Vanden JP, Wagner PR, West SG. Dose-response effects of omega-3 fatty acids on triglycerides, inflammation, and endothelial function in healthy persons with moderate hypertriglyceridemia *Am J Clin Nutr*. 2011;93(2):243–52. doi: 10.3945/ajcn.110.003871

80. Chen C, Yu X, Shao S. Effects of omega-3 fatty acid supplementation on glucose control and lipid levels in type 2 diabetes: a metaanalysis. *PLoS ONE*. 2015;10(10): e0139565. doi:10.1371/ journal.pone.0139565

81. Lalia AZ, Johnson ML, Jensen MD, Hames KC, Port JD, Lanza IR. Effects of dietary n-3 fatty acids on hepatic and peripheral insulin sensitivity in insulin resistant humans. *Diabetes Care*. 2015;38(7):1228-37. doi: 10.2337/dc14-3101

82. Jovanovski E, Li D, Thanh Ho HV, Djedovic V, Ruiz AC, Shishtar E, et al. The effect of alpha-linolenic acid on glycemic control in individuals with type 2 diabetes A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(2):1e6531. doi: 10.1097/MD.00000000000006531

83. Backes J, Anzalone D, Hilleman D, Catini J. The clinical relevance of omega-3 fatty acids in the management of hypertriglyceridemia. *Lipids Health Dis*. 2016;15:118. doi: 10.1186/s12944-016-0286-4

84. Mori T. Dietary n-3 PUFA and CVD: a review of the evidence *Proceedings of the Nutrition Society*. 2014;73(1):57–64 doi:10.1017/S0029665113003583

85. Nam GE, Myung SK, Choi YJ. Use of omega-3 fatty acid supplements has insufficient clinical evidence for treatment of hypertriglyceridemia: a meta-analysis of randomized, double-blind, placebo-controlled trials. *Eur J of Lipid Science and Technology*. 2017. doi: 10.1002/ejlt.201700111

86. Pan A, Chen M, Chowdhury R, Wu JH, Sun Q, Campos H, et al. α -Linolenic acid and risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2012;96(6):1262-73. doi: 10.3945/ajcn.112.044040

87. Robertson RC, Guihéneuf F, Bahar B, Schmid M, Stengel DB, Fitzgerald GF, et al. The anti-inflammatory effect of algae-derived lipid extracts on lipopolysaccharide (LPS)-stimulated human THP-1 macrophages. *Mar Drugs*. 2015;13(8):5402-24. doi: 10.3390/md13085402

88. Nauroth JM, Liu YC, Van Elswyk M, Bell R, Hall EB, Chung G. Docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA n-6) algal oils

reduce inflammatory mediators in human peripheral mononuclear cells in vitro and paw edema in vivo. *Lipids*. 2010;45(5):375-84. doi: 10.1007/s11745-010-3406-3

89. Hendrich S. (n-3) Fatty acids: clinical trials in people with type 2 diabetes. *Adv. Nutr.* 2010;1:3-7. doi: 10.3945/an.110.1003

90. Kontogianni MD, Vlassopoulos A, Gatzieva A, Farmaki AE, Katsiogiannis S, Panagiotakos DB, et al. Flaxseed oil does not affect inflammatory markers and lipid profile compared to olive oil, in young, healthy, normal weight adults. *Metabolism*. 2013;62(5):686-93. doi: 10.1016/j.metabol.2012.11.007

91. Abedi E, Sahari MA. Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. *Food Sci Nutr*. 2014;2(5):443-63. doi: 10.1002/fsn3.121.

92. Nakamura K, Miyoshi T, Yunoki K, Ito H Postprandial hyperlipidemia as a potential residual risk factor. *Journal of Cardiology*. 2016;67(4):335-339. doi: 10.1016/j.jjcc.2015.12.001

93. Zilvermit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation*. 1979;60(3):473-485. doi: 10.1161/01.CIR.60.3.473

94. Botham KM, Wheeler-Jones CP. Postprandial lipoproteins and the molecular regulation of vascular homeostasis. *Prog in Lipid Res*. 2013;52(4):446-64. doi: 10.1016/j.plipres.2013.06.001

95. Varela LM, Abia MR (dir), García FJ (dir), López S (dir). Estudio de la respuesta postprandial de células vasculares y su implicación en la aterosclerosis [tesis de Internet] [Sevilla] Universidad de Sevilla, España; 2012 [citado 20 de octubre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://fondosdigitales.us.es/tesis/tesis/1870/estudio-de-la-respuesta-postprandial-de-celulas-vasculares-y-su-implicacion-en-la-aterosclerosis/>

96. Vestweber D. How leukocytes cross the vascular endothelium. *Nature Reviews Immunology*. 2015;15:692–704. doi:10.1038/nri3908

97. Weaver J. Insights into How Calcium Forms Plaques in Arteries Pave the Way for New Treatments for Heart Disease. *PLoS Biol*. 2013;11(4):e1001533. doi: 10.1371/journal.pbio.1001533

98. Ryan MC, Morris C, O'Grada C, Walsh M, Gibney ER, Brennan L, et al. Phenotypic and genotypic determinants of postprandial lipaemic response variation in healthy adults. Summer Meeting hosted by the Irish Section, 16–19 July 2012,

Translational nutrition: integrating research, practice and policy. Proceedings of the Nutrition Society. 2012;71(OCE2):E184. doi:10.1017/S0029665112002418

99. Morris C, O'Grada CM, Ryan MF, Gibney MJ, Roche HM, Gibney ER, et al. Modulation of the lipidomic profile due to a lipid challenge and fitness level: a postprandial study. *Lipids Health Dis.* 2015;14:65. doi: 10.1186/s12944-015-0062-x

100. Anderson AS, Haynie KR, McMillan RP, Osterberg KL, Boutagy NE, Frisard MI, et al. Early skeletal muscle adaptations to short-term high-fat diet in humans before changes in insulin sensitivity. *Obesity (Silver Spring).* 2015;23(4):720-74. doi: 10.1002/oby.21031

101. Itoh K, Moriguchi R, Yamada Y, Fujita M, Yamato T, Oumi M, et al. High saturated fatty acid intake induces insulin secretion by elevating gastric inhibitory polypeptide levels in healthy individuals. *Nutr Res.* 2014;34(8):653-60. doi: 10.1016/j.nutres.2014.07.013

102. Jans A, Konings E, Goossens GH, Bouwman FG, Moors CC, Boekschoten MV, et al. PUFAs acutely affect triacylglycerol-derived skeletal muscle fatty acid uptake and increase postprandial insulin sensitivity. *Am J Clin Nutr.* 2012;95(4):825–36. doi: 10.3945/ajcn.111.028787

103. Kennedy A, Spiers JP, Crowley V, Williams E, Lithander FE. Postprandial adiponectin and gelatinase response to a high-fat versus an isoenergetic low-fat meal in lean, healthy men. *Nutrition.* 2015;31(6):863-70. doi: 10.1016/j.nut.2015.01.009

104. Lopez S, Bermudez B, Ortega A, Varela LM, Pacheco YM, Villar J, et al. Effects of meals rich in either monounsaturated or saturated fat on lipid concentrations and on insulin secretion and action in subjects with high fasting triglyceride concentrations. *Am J Clin Nutr* 2011;93(3):494-9. doi: 10.3945/ajcn.110.003251

105. Konstantinidou V, Khymenets O, Fito M, De La Torre R, Anglada R, Dopazo A, et al. Characterization of Human Gene Expression Changes after Olive Oil Ingestion: an Exploratory Approach. *Folia Biol (Praha).* 2009;55(3):85-91.

106. Matone A, O'Grada CM, Dillon ET, Morris C, Ryan MF, Walsh M, et al. Body mass index mediates inflammatory response to acute dietary challenges *Mol. Nutr. Food Res.* 2015, 59(11):2279-92. doi: 10.1002/mnfr.201500184

107. Leder L, Kolehmainen M, Narverud I, Dahlman I, Myhrstad MC, de Mello VD, et al. Effects of a healthy Nordic diet on gene expression changes in peripheral blood mononuclear cells in response to an oral glucose tolerance test in

subjects with metabolic syndrome: a SYSDIET sub-study. *Genes Nutr.* 2016;17(11):3. doi: 10.1186/s12263-016-0521-4

108. Ardila Pinto F, Valoyes E, Melo M, Martínez AM. Documento nacional hábitos y prácticas alimentarias [Internet]. Ministerio de Educación Nacional. Universidad Nacional de Colombia. 2013 [citado 20 de noviembre de 2017]. Recuperado a partir de: http://www.mineducacion.gov.co/1621/articles-336866_archivo_pdf_UNAL_habitos_alimentarios.pdf

109. Jacome M, Parks EJ, Bruno RS, Tasali E, Lewis GF, et al. Postprandial Metabolism of Macronutrients and Cardiometabolic Risk: Recent Developments, Emerging Concepts, and Future Directions. *Adv Nutr.* 2016;7:364-74. doi: 10.3945/an.115.010397

110. O'Gorman A, Morris C, Ryan M, O'Grada CM, Roche HM, Gibney ER, et al. Habitual dietary intake impacts on the lipidomic profile. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2014;966:140-6. doi: 10.1016/j.jchromb.2014.01.032

111. Ishikawa S, Li G, Takemitsu H, Fujiwara M, Mori N, Yamamoto I, et al. Change in mRNA expression of sirtuin 1 and sirtuin 3 in cats fed on high fat diet. *BMC Vet Res.* 2013;9:187. doi: 10.1186/1746-6148-9-187

112. Preyat N, Leo O. Sirtuin deacylases: a molecular link between metabolism and immunity. *J Leukoc Biol.* 2013;93(5):669-80. doi: 10.1189/jlb.1112557

113. Lee JH, Moon JH, Lee YJ, Park SY. SIRT1, a Class III histone deacetylase, regulates LPS-induced inflammation in human keratinocytes and mediates the anti-inflammatory effects of hinokitiol. *J Invest Dermatol.* 2017;137(6):1257-66. doi: 10.1016/j.jid.2016.11.044

114. Feldman JL, Baeza J, Denu JM. Activation of the protein deacetylase sirt6 by long-chain fatty acids and widespread deacylation by mammalian sirtuins. *J Biol Chem.* 2013;288(43):31350-6. doi: 10.1074/jbc.C113.511261

115. Yi P, Pang J, Alexander JS1, Rivera C. The endotoxin/toll-like receptor-4 axis mediates gut microvascular dysfunction associated with post-prandial lipidemia. *BMC Physiol.* 2013 Nov 12;13:12. doi: 10.1186/1472-6793-13-12

116. Song R, Xu W, Chen Y, Li Z, Zeng Y, Fu Y. The expression of Sirtuins 1 and 4 in peripheral blood leukocytes from patients with type 2 diabetes, *Eur. J. Histochem.*, 2011;55(1):e10. doi:10.4081/ejh.2011.e10

117. Sampson JN, Henning AS, Prado EA, Venable AS, Padilla PA, McFarlin BK. (2015). Consumption of a high-fat meal alters post-prandial SIRT mRNA

expression in blood leukocytes. [Internet] International Journal of Exercise Science: Conference Proceedings: IJESAB. [Internet] 2015 [citado 27 de junio de 2016]; 2(7). Recuperado a partir de: <https://digitalcommons.wku.edu/ijesab/vol2/iss7/10/>

118. Travers RL, Motta AC, Betts JA, Thompson D. Adipose tissue metabolic and inflammatory responses to a mixed meal in lean, overweight and obese men. *Eur J Nutr.* 2017;56(1):375-85. doi: 10.1007/s00394-015-1087-7

119. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrition Data Laboratory. USDA National Nutrient Database for Standard Reference

120. Gutierrez R, Ramirez MA, Fega S, Fontecha J, Rodriguez LM, Escobar A. 2014 Contenido de ácidos grasos en semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) cultivadas en cuatro estados de México. *Rev Cubana Plant Med* [Internet]. 2014;19(3):199-207.

121. Marrugat J, Vila J, Pavesi M, Sanz F. Estimación del tamaño de la muestra en la investigación clínica y epidemiológica. *Med Clin (Barc)* [Internet]1998 [citado 15 marzo 2014];111: 267-76. Recuperado a partir de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2007505713727157>

122. Schwander F, Kopf KA, Buri C, Portmann R, Egger L, Chollet M, et al. A dose-response strategy reveals differences between normal-weight and obese men in their metabolic and inflammatory responses to a high-fat meal. *J Nutr.* 2014;144(10):1517-23. doi: 10.3945/jn.114.193565

123. Huamán J, Chávez K, Castañeda E, Carranza S, Chávez T, et al. Efecto de la *Plukenetia volubilis* Linneo (*Sacha inchi*) en la trigliceridemia posprandial. *An Fac Med.* 2008;69(4):263-6. doi: 10.15381/anales.v69i4.1128

124. Huamán JJ, Fogel BE; Escobar, PI, Castillo KY. Efectos de la ingesta de *Plukenetia volubilis* Linneo o "Sacha inchi" en el perfil lipídico de adultos jóvenes. *Acta méd peruana* [Internet] 2012 [citado 14 de febrero 2015];29(3):155-60. Recuperado a partir de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1728-59172012000300005&script=sci_arttext

125. Gallo JA, Ochoa JE, Balparda JK, Aristizábal D. Puntos de corte del perímetro de la cintura para identificar sujetos con resistencia a la insulina en una población colombiana. *Acta Médica Colombiana.* [Internet] 2013;[citado 24 de mayo de 2016] 38(2):118-126. Recuperado a partir de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-24482013000300006&lng=es&nrm=iso

126. Liu L, Wang X, Li Y, Sun C. Postprandial differences in the amino acid and biogenic amines profiles of impaired fasting glucose individuals after intake of highland barley. *Nutrients*. 2015;7(7):5556-71. doi:10.3390/nu7075238
127. Nogaroto V, Rodrigues MR, Vicari MR, De Almeida MC, Milléo FQ, Dos Santos FA, et al. High postprandial triglycerides serum levels: is obesity a good predictor? *An Acad Bras Ciênc*. 2015;87(1):437-45. doi: 10.1590/00013765201520130380
128. Guerci B, Paul JL, Hadjadj S, Durlach V, Vergés B, Attia N, et al. Analysis of the postprandial lipid metabolism: use of a 3-point test. *Diabetes Metab*. 2001;27(4):449-57. doi : DM-09-2001-27-4-1262-3636-101019-ART4
129. Carstensen M, Thomsen C, Hermans K. Incremental area under response curve more accurately describes the triglyceride response to an oral fat load in both healthy and type 2 diabetic subjects. *Metabolism*. 2003;52(8):1034-7 doi: 10.1016/S00260495(03)00155-0
130. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28:412-419.
131. Garmendia ML, Lera L, Sánchez H, Uauy R, Albala C. Valores normativos de resistencia a la insulina mediante HOMA-IR en adultos mayores de Santiago de Chile. *Rev Méd Chile*. 2009;137(11):1409-16. doi: 10.4067/S0034-98872009001100001
132. Xun P, Liu K, Cao W, Sidney S, Williams OD, He K. Fasting insulin level is positively associated with incidence of hypertension among american young adults: a 20-year follow-up study. *Diabetes Care* . 2012;35(7):1532-7. doi: 10.2337/dc11-2443
133. Turek IA, Wozniak LA, Cypriak K, Nadel I, Wojcik M. Evaluation of leukocyte SIRT1 expression in women with gestational diabetes mellitus (GDM) in the third trimester of pregnancy. *Diabet. Klin*. 2014;3(1):3–11doi: 10.1002/dmrr.2446
134. Chen C, Shao Y, Wu X, Huang C, Lu W. Elevated Interleukin-17 levels in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Biochem Physiol*. 2016;5:206. doi: 10.4172/2168-9652.1000206
135. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-DDCT} method. *Methods*. 2001;25:402-8. doi: 10.1006/meth.2001.1262

136. Lozano A, Perez-Martinez P, Delgado-Lista J, Marin C, Cortes B, Rodriguez-Cantalejo F, et al. Body mass interacts with fat quality to determine the postprandial lipoprotein response in healthy young adults. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012;22(4):355-61. doi: 10.1016/j.numecd.2010.07.013
137. An P, Straka RJ, Pollin TI, Feitosa MF, Wojczynski MK, Daw EW, et al. Genome-wide association studies identified novel loci for nonhigh-density lipoprotein cholesterol and its postprandial lipemic response *Hum Genet.* 2014;133(7):919-30. doi: 10.1007/s00439-014-1435-3
138. Manochehri M, Moghadam AJ. Studying the relation of postprandial triglyceride with coronary artery disease (CAD). *Med Arch.* 2016;70(4):261-4. doi: 10.5455/medarh.2016.70.261-264
139. Vors C, Pineau G, Draï J, Meugnier E, Pesenti S, Laville M, et al. Postprandial endotoxemia linked with chylomicrons and LPS handling in obese vs lean men: a lipid dose effect trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(9):3427-35. <http://dx.doi.org/10.1210/JC.2015-2518>
140. Ghoshal S, Witta J, Zhong J, de Villiers W, Eckhardt E. Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. *J. Lipid Res* 2009;50(1):90-7. doi: 10.1194/jlr.M800156-JLR200
141. Laugerette F, Alligier M, Bastard JP, Draï J, Chanseaux E, Lambert S, et al. Overfeeding increases postprandial endotoxemia in men: Inflammatory outcome may depend on LPS transporters LBP and sCD14. *Mol Nutr Food Res.* 2014;58(7):1513-8. doi: 10.1002/mnfr.201400044
142. Numao S. A single bout of exercise and postprandial hyperglycemia caused by high-fat diet. *J Phys Fitness Sports Med.* 2016;5(2):181-5. doi: 10.7600/jpfs.5.181
143. Liu H, Qiu Y, Mu Y, Zhang X, Liu L, Hou X, et al. A high ratio of dietary n-3/n-6 polyunsaturated fatty acids improves obesity-linked inflammation and insulin resistance through suppressing activation of TLR4 in SD rats. *Nutr Res.* 2013;33(10):849-58. doi: 10.1016/j.nutres.2013.07.004
144. Peluso I, Manafikhi H, Reggi R, Longhitano Y, Zanza C, Palmery M. Relationship between the peroxidation of leukocytes index ratio and the improvement of postprandial metabolic stress by a functional food, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2016. doi: 10.1155/2016/5630985
145. Lalia AZ, Lanza IR. Insulin-sensitizing effects of omega-3 fatty acids: lost in translation? *Nutrients.* 2016;8(6):329. doi:10.3390/nu8060329

146. Guess N, Perreault L, Kerege A, Strauss A, Bergman BC. Dietary fatty acids differentially associate with fasting versus 2-hour glucose homeostasis: implications for the management of subtypes of prediabetes. *PLoS ONE*. 2016;11(3):e0150148. doi:10.1371/journal.pone.0150148
147. Derosa G, Cicero AF, D'Angelo A, Borghi C, Maffioli P. Effects of n-3 PUFAs on fasting plasma glucose and insulin resistance in patients with impaired fasting glucose or impaired glucose tolerance. *Biofactors*. 2016;42(3):316–322. doi: 10.1002/biof.1277
148. Yamagata K. Docosahexaenoic acid regulates vascular endothelial cell function and prevents cardiovascular disease. *Lipids Health Dis*. 2017;16(1):118. doi: 10.1186/s12944-017-0514-6
149. Anderson BM, Ma DWL. Are all n-3 polyunsaturated fatty acids created equal? *Lipids Health Dis*. 2009 Aug 10;8:33. doi: 10.1186/1476-511X-8-33
150. Arner P, Rydén M. Fatty Acids, Obesity and Insulin Resistance *Obes Facts* 2015;8(2):147-55. doi: 10.1159/000381224
151. Lyte JM, Gabler NK, Hollis JH. Postprandial serum endotoxin in healthy humans is modulated by dietary fat in a randomized, controlled, cross-over study. *Lipids Health Dis* 2016;15(1):186. doi: 10.1186/s12944-016-0357-6
152. Wagmacker DS, Petto J, Silva FL, dos Santos ACN, Ladeia AMT. 2015. C-reactive protein in the initial phase of postprandial lipemia in subjects with central obesity. *Int J Cardiovasc Sci*. 2015;28(1):9-15. doi: 10.5935/2359-4802.20150003
153. Gómez MJ, Marín C, Pérez P, Cruz C, García A, Yubero EM, et al. Efecto de la cantidad y el tipo de grasa de la dieta en la respuesta posprandial de la concentración de proteína C reactiva en el síndrome metabólico. *Clin Invest Arterioscl*. 2009;21(6):281-6. doi: 10.1016/S0214-9168(09)72957-2
154. Thompson D, Dixon N. Measurement of postprandial interleukin-6 by using a catheter: what does it tell us? *Am J Clin Nutr*. 2009;90(5):1446-7 doi: 10.3945/ajcn.2009.28460
155. Haack M, Kraus T, Schuld A, Dalal M, Koethe D, Pollmacher T. Diurnal variations of interleukin-6 plasma levels are confounded by blood drawing procedures. *Psychoneuroendocrinology*. 2002;27(8):921-31. doi:10.1016/S0306-4530(02)00006-9

156. Liang H, Hussey SE, Sanchez A, Tantiwong P, Musi N. Effect of Lipopolysaccharide on Inflammation and Insulin Action in Human Muscle. PLoS ONE. 2013;8(5):e63983. doi:10.1371/journal.pone.0063983
157. Akinkuolie AO, Ngwa JS, Meigs JB, Djoussé L. Omega-3 polyunsaturated fatty acid and insulin sensitivity: A meta-analysis of randomized controlled trials. Clin Nutr. 2011;30(6):702-7. doi: 10.1016/j.clnu.2011.08.013
158. Costa LA, Batista AE, Mondejar D, Soto Y, Brito V, Vázquez AM, et al. Inhibition of LDL-oxidation and antioxidant properties related to polyphenol content of hydrophilic fractions from seaweed *Halimeda incrassata* (Ellis) Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2012; 48(1):31-7.
159. Jovanovski E, Li D, Thanh HV, Djedovic V, Ruiz A C, Shishtar E, Mejía SB, Sievenpiper JL, de Souza RJ, Duvnjak L and Vuksan V. The effect of alpha-linolenic acid on glycemic control in individuals with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials, Medicine (Baltimore), 2017, 96, pe6531 doi: 10.1097/MD.00000000000006531
160. Tsatsoulis T, Mantzaris MD, Bellou S, Andrikoula M. Insulin resistance: An adaptive mechanism becomes maladaptive in the current environment - An evolutionary perspective. Metab. Clin. Exp. 2013;62(5):622-33. doi: 10.1016/j.metabol.2012.11.004
161. Turkmen K, Karagoz A, Kucuk A. Sirtuins as novel players in the pathogenesis of diabetes mellitus. World J Diabetes. 2014;5(6):894-900. doi: 10.4239/wjd.v5.i6.894.
162. Rutanen J, Yaluri N, Modi S, Pihlajamäki J, Vanttinen M, Itkonen P, et al. SIRT1 mRNA expression may be associated with energy expenditure and insulin sensitivity. Diabetes. 2010;59(4):829-35. doi: 10.2337/db09-1191
163. Gillingham LG1, Harding SV, Rideout TC, Yurkova N, Cunnane SC, Eck PK, Jones PJ. Dietary oils and FADS1-FADS2 genetic variants modulate [13C]α-linolenic acid metabolism and plasma fatty acid composition. Am J Clin Nutr 2013;97:195–207. doi: 10.3945/ajcn.112.043117
164. Zhou YE, Kubow S, Dewailly E, Julien P, Egeland GM. Decreased activity of desaturase 5 in association with obesity and insulin resistance aggravates declining long-chain n-3 fatty acid status in Cree undergoing dietary transition. Br J Nutr. 2009;102(6):888–894. doi:10.1017/S0007114509301609
165. Gamarra M, Flores B, Palacios F. 2015. Efecto hipolipemiante del aceite de Sacha Inchi en adultos con hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia de 35-64

años, Nuevo AA.HH. Nueva Alianza, Chaclacayo, Lima. Revista Científica de Ciencias de la Salud. 2015;8:44-50.

166. Vankova D, Nazifova N, Kiselova Y, Ivanova D. 2016. Stress-tolerance tests and postprandial low-grade inflammation response. Scripta Scientifica Pharmaceutica. 2016; 3:34-38. doi: 10.14748/ssp.v1i1.1733

167. Wopereis S, Wolvers D, van Erk M, Gribnau M, Kremer B, van Dorsten FA, et al. Assessment of inflammatory resilience in healthy subjects using dietary lipid and glucose challenges. BMC Medical Genomics. 2013;6(44). <http://dx.doi.org/10.1186/1755-8794-6-44>

168. Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease Nat Immunol. 2015;16(5):448-57. doi: 10.1038/ni.3153

ANEXOS

Anexo 1. Entrevista preliminar

Proyecto: “EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN CON ACEITE DE SACHA INCHI DE UNA COMIDA RICA EN GRASA SOBRE LA RESPUESTA METABÓLICA E INFLAMATORIA POSTPRANDIAL Y SU RELACIÓN CON EL ESTADO METABÓLICO”

Investigadores: Dra. ISABELLA ECHEVERRI JIMENEZ Ph.D., Investigador principal. Docente de Tiempo completo Universidad ICESI.

ALICIA NORMA ALAYÓN MSc., Co-investigadora. Estudiante de Doctorado en Ciencias Biomédicas de Universidad del Valle. Docente asociado de la Universidad de San Buenaventura Cartagena.

Institución Financiadoras: Universidad ICESI-Universidad de San Buenaventura

Cuál es el propósito del estudio?

Usted ha sido invitado a participar en el estudio “EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN CON ACEITE DE SACHA INCHI DE UNA COMIDA RICA EN GRASA SOBRE LA RESPUESTA METABÓLICA E INFLAMATORIA POSTPRANDIAL EN ADULTOS SEDENTARIOS CON Y SIN OBESIDAD ABDOMINAL”. Este proyecto de investigación, a cargo del grupo Biomédica de la Universidad ICESI, Cali, y del Grupo de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de San Buenaventura, Cartagena, tiene por objetivo estudiar qué efectos tiene complementar con un aceite rico en ácidos grasos polinsaturados ω 3 y ω 6 (obtenido de Sacha inchi) sobre indicadores de la salud del sistema cardiovascular, del sistema de defensa del organismo y del funcionamiento del páncreas. De acuerdo con la normatividad vigente (Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia) el riesgo de esta investigación es definido como mínimo porque se tomarán muestras biológicas, más no por el tipo de exposición que ya cuenta con la aprobación de las agencias correspondientes y se encuentra al acceso de la población general.

Para ello es importante conocer si usted cumple con unos criterios generales:

Indagar:

1. Edad debe estar entre 27 y 59 años
2. Que no fume ni haya fumado en los pasados 3 años
3. Que no realice ejercicio físico (Que no dedique más de 2,5 horas semanales a la práctica de actividad física moderada, o más de 1 hora de actividad física aeróbica vigorosa cada semana, en sesiones de 10 minutos de duración.)
4. Que su estado general sea saludable (que indique que no tiene diagnóstico de ninguna enfermedad)

Gracias.

Nota: esta parte de la entrevista se realizará de forma oral y se anotarán los individuos que cumplan con los 4 criterios mencionados, a quienes posteriormente se los citará para entrevista completa y firma de cláusula de consentimiento informado.

Anexo 2. Entrevista definitiva y consentimiento informado

Proyecto: “EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN CON ACEITE DE SACHA INCHI DE UNA COMIDA RICA EN GRASA SOBRE LA RESPUESTA METABÓLICA E INFLAMATORIA POSTPRANDIAL Y SU RELACIÓN CON EL ESTADO METABÓLICO”

Investigadores: Dra. ISABELLA ECHEVERRI JIMENEZ Ph.D., Investigador principal. Docente de Tiempo completo Universidad ICESI.

ALICIA NORMA ALAYÓN MSc., Co-investigadora. Estudiante de Doctorado en Ciencias Biomédicas de Universidad del Valle. Docente asociado de la Universidad de San Buenaventura Cartagena.

Institución Financiadoras: Universidad ICESI-Universidad de San Buenaventura

Cuál es el propósito del estudio?

Usted ha sido invitado a participar en el estudio “EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN CON ACEITE DE SACHA INCHI DE UNA COMIDA RICA EN GRASA SOBRE LA RESPUESTA METABÓLICA E INFLAMATORIA POSTPRANDIAL EN ADULTOS SEDENTARIOS CON Y SIN OBESIDAD ABDOMINAL”. Este proyecto de investigación, a cargo del grupo Biomédica de la Universidad ICESI, Cali, y del Grupo de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de San Buenaventura, Cartagena, tiene por objetivo estudiar qué efectos tiene complementar con un aceite rico en ácidos grasos polinsaturados ω 3 y ω 6 (obtenido de Sacha inchi) sobre indicadores de la salud del sistema cardiovascular, del sistema de defensa del organismo y del funcionamiento del páncreas. De acuerdo con la normatividad vigente (Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia) el riesgo de esta investigación es definido como mínimo porque se tomarán muestras biológicas, más no por el tipo de exposición que ya cuenta con la aprobación de las agencias correspondientes y se encuentra al acceso de la población general.

Qué pasará durante el estudio?

Si usted acepta participar en el estudio, se le realizará una entrevista corta y se le medirán el peso, la talla y la circunferencia de cintura. Se le darán recomendaciones nutricionales y será citado dos veces (con una semana de intervalo), en horas de la mañana y después de un ayuno de 12 horas, para recibir en cada ocasión uno de dos desayunos (cada uno con una grasa diferente). Durante la semana entre las dos intervenciones, usted deberá seguir con su dieta habitual y diligenciar un recordatorio de 24 horas.

Los días en los que recibirá el desayuno, se le tomarán 3 muestras de sangre (una en ayunas, y las otras dos a la hora y a las 4 horas después del desayuno, y en cada una se tomarán 10 ml de sangre, aproximadamente) para medir los niveles de glucosa, insulina, colesterol, triglicéridos y lipopolisacáridos. La toma de muestras estará a cargo de un/a bacteriólogo/a quién tendrá la colaboración de una auxiliar. Las muestras serán utilizadas de manera confidencial con fines únicamente investigativos para el presente estudio u otros estudios posteriores relacionados.

Después de la última cita usted será contactado una vez más vía telefónica para concertar una cita y darle a conocer los resultados de los exámenes de laboratorio y las recomendaciones médicas a seguir en caso necesario.

Cuánto tiempo durará su participación en el estudio?

A partir del momento en que usted acepte participar en el estudio, pueden pasar entre 1 a 2 semanas para asistir a la primera cita y después de 1 semana asistiría a la segunda cita. Serían en total entre 3 a 4 semanas en las cuales seguiría durante 2 semanas las recomendaciones nutricionales proporcionadas previamente y se desplazaría en 2 ocasiones al lugar asignado para proporcionarle el desayuno y realizar la toma de las muestras de sangre.

Cómo se podría beneficiar si participa en el estudio?

Al finalizar el estudio, se le entregará una copia de los resultados de los exámenes de laboratorio de interés clínico (glucemia, insulinemia y perfil lipídico) así como una charla explicativa general de los hallazgos más relevantes del estudio. Los resultados de sus exámenes de laboratorio le brindarán información adicional sobre su estado de salud y las recomendaciones médicas y de

estilo de vida brindadas le permitirán tener herramientas adicionales para seguir cuidando de su salud.

Si los resultados del estudio demuestran beneficios derivados de la complementación de la alimentación con este aceite, se promoverá su consumo como una alternativa nutricional valiosa en la prevención de enfermedades crónicas.

Qué daños podrían ocurrirle si hace parte del estudio?

Esta investigación se considera de riesgo mínimo, toda vez que incluye la ingesta de alimentos aprobados para consumo humano, procesados en condiciones que aseguren su inocuidad. El aceite de Sacha inchi es consumido desde la antigüedad y se proporcionará uno que cuenta con Registro INVIMA. Cabe mencionar que el aceite de Sacha inchi es considerado por la FDA como sustancia generalmente reconocida como seguras, (GRAS, por sus siglas en inglés: Substances Generally Recognized as Safe)

Los exámenes de sangre son similares a los exámenes de rutina y no ocasionarán un riesgo para su salud, salvo por las molestias propias que puede ocasionar la extracción de sangre que puede producir un leve dolor o ardor por el pinchazo y la aparición de un morado pasajero en el sitio de punción. Las pruebas serán realizadas por personal debidamente calificado, con métodos estandarizados y con las precauciones que aseguren la buena calidad de las muestras con una mínima incomodidad al paciente.

Confidencialidad

La información obtenida será utilizada únicamente para propósitos de investigación. Su nombre no aparecerá en ningún reporte o publicación. De tomarse fotos, su publicación será con fines académicos y previa edición de las mismas para proteger su identidad.

Costo de su participación

Ninguno. El estudio asume el costo de los exámenes de laboratorio y los desayunos.

Sus derechos en el estudio

Su participación en el estudio es completamente voluntaria. Si usted no quiere participar o si ya estando en el estudio se quiere retirar por algún motivo, no tendrá ninguna consecuencia.

En caso de que tenga preguntas adicionales sobre el estudio, usted puede contactar a la Dra. Isabella Echeverri al tel. 555 2334 ext.8142, 8144, en Universidad ICESI-Cali o con la profesora Alicia Norma Alayón, al tel 6539595 Ext 202 en la Universidad de San Buenaventura-Cartagena.

Con su firma usted acepta que ha leído este documento, que se han respondido satisfactoriamente sus preguntas, aclarado posibles dudas y que acepta participar de manera voluntaria en el presente estudio.

Usted recibirá una copia del presente documento.

Nombre Participante

Firma

Nombre Testigo

Firma

Nombre Encuestador

Firma

Proyecto: “EFECTO DE LA COMPLEMENTACIÓN CON ACEITE DE SACHA INCHI DE UNA COMIDA RICA EN GRASA SOBRE LA RESPUESTA METABÓLICA E INFLAMATORIA POSTPRANDIAL Y SU RELACIÓN CON EL ESTADO METABÓLICO”

Investigadores: Isabella Echeverri y Alicia Alayón

Institución Ejecutora: Universidad ICESI- Cali y Universidad de San Buenaventura- Cartagena

DATOS DEL PARTICIPANTE

Nombre y apellidos completos: _____

Código: _____

Teléfonos de contacto: _____

Dirección: _____

Documento de Identificación: _____

Edad: ____ años ____

¿Edad comprendida entre 27 y 59 años cumplidos?

Sí _____

No _____

—
CRITERIO DE DECISIÓN: Solo ingresa al estudio el paciente que tenga entre 27 y 59 años.

¿En algún momento le han diagnosticado alguna de las siguientes enfermedades?

Dislipidemia familiar____, Síndrome de malabsorción____, Diabetes____, Insuficiencia renal____, Insuficiencia hepática____, Cirrosis____, Hipertensión arterial____, Dislipidemia____, Insuficiencia cardíaca____, Infarto de miocardio____, Accidente cerebrovascular____, Gastritis crónica____, Úlcera gástrica____, Reflujo gastroesofágico____, Pancreatitis____, Síndrome de intestino irritable____, Diverticulitis____, Colecistitis____, problemas de tiroides____, cálculos en la vesícula____.

—
CRITERIO DE DECISIÓN: Solo ingresa al estudio el paciente que responda que NO a todas.

¿En algún momento el médico le ha dicho que usted no puede ingerir grasas?

Sí _____ No _____

Si contestó sí, diga por qué razón:

CRITERIO DE DECISIÓN: Solo ingresa al estudio el paciente que responda NO

¿Ingiera usted algún medicamento hipolipemiente? (ejemplo: estatinas, fibratos,...)

Sí _____ No _____

¿Ingiera algún otro tipo de medicamento, vitaminas o suplementos alimenticios actualmente?

Sí _____ No _____

Si contestó sí, diga cuales:

CRITERIO DE DECISIÓN: Solo ingresa al estudio el paciente que responda que NO o que responda medicamentos que no tengan acción directa sobre metabolismo de lípidos o glúcidos.

¿Usted consume alcohol (como cerveza, aguardiente u otro licor) con frecuencia?

Sí ____ No ____

Si contestó sí, conteste:

• Qué tipo de bebida alcohólica bebe más frecuentemente _____

• ¿Con qué frecuencia?:

Semanalmente(0)____ Mensualmente(1)____ Dos a cuatro veces al mes(2)____

Dos o tres veces por semana(3)____ Más de cuatro veces por semana____ (4)

• ¿Cuántos tragos bebe usted en un día típico que esté bebiendo:

Uno-dos(0)____ Tres -cuatro(1)____ Cinco-seis(2)____ Siete-nueve(3)____ Diez o más(4)____

• ¿Qué tan frecuentemente bebe usted seis o más tragos en una ocasión?

Nunca(0)____ Menos que mensualmente(1)____ Mensualmente (2)____

Dos o tres veces por semana(3)____ Más que 4 veces por semana(4)____

CRITERIO DE DECISIÓN: Sume los valores que están entre paréntesis correspondientes a las respuestas del participante. Solo ingresa al estudio el paciente que responda que NO bebe o aquellos que obtengan un puntaje menor o igual a 3.

¿Usted Fuma?

Sí ____ No ____

¿Consume usted algún "producto de tabaco" es decir preparado totalmente o en parte utilizando como materia prima hojas de tabaco y destinados a ser fumados, chupados, mascados o utilizados como rapé?. (CMCT de la OMS, Artículo 1)

Sí ____ No ____

¿Fumó alguna vez?

Sí ____ No ____

Si contestó sí, diga hace cuánto dejó de fumar: _____

En promedio fumaba: _____ cigarrillos/día

CRITERIO DE DECISIÓN: Solo ingresa al estudio el paciente que responda que NO fuma ni consume productos del tabaco o aquellos que, habiendo fumado, hayan dejado de hacerlo hace 2 años.

ESCASA ACTIVIDAD FÍSICA (Definición operacional: dedicación mínima de 150 minutos semanales a la práctica de actividad física aeróbica, de intensidad moderada, o bien 75 minutos de actividad física aeróbica vigorosa cada semana, en sesiones de 10 minutos de duración, como mínimo. Aclaración: las "actividades físicas intensas" se refieren a aquéllas que implican un esfuerzo físico importante y que causan una gran aceleración de la respiración o del ritmo cardíaco. Por otra parte, las "actividades físicas de intensidad moderada" son aquéllas que implican un esfuerzo físico moderado y causan una ligera aceleración de la respiración o del ritmo cardíaco. OMS, Recomendaciones mundiales sobre la actividad física para la salud, 2010.)

¿Practica usted ejercicio físico regular moderado o intenso como parte de un plan de ejercitación regular estructurado?

Sí ____ No ____ Si contestó SI, diga cuantos minutos por semana:.....

¿En su tiempo libre o durante su tiempo de trabajo, realiza usted actividades que implican una aceleración importante de la respiración o del ritmo cardíaco como [levantar pesos, cavar, trabajos de construcción, correr, jugar al fútbol] durante al menos 10 minutos consecutivos?

Sí _____ No _____ Si contestó SI diga cuantas veces por semana _____

¿Camina usted o usa usted una bicicleta al menos 10 minutos consecutivos en sus desplazamientos?

Sí _____ No _____ Si contestó SI diga cuantas veces por semana _____

CRITERIO DE DECISIÓN: Solo ingresa al estudio el paciente que responda que NO realiza ejercicio físico y aquellos cuya actividad física o ejercicio se asocie a menos de 150 minutos a la semana en actividades moderadas o 75 minutos a la semana en ejercicios vigorosos.

En el último mes, usted ha presentado alguno de los siguientes síntomas?

Vómito _____, diarrea _____, dolor abdominal _____.

Si consultó al médico por alguno de los síntomas anteriores, qué diagnóstico le dieron?

CRITERIO DE DECISIÓN: Solo ingresa al estudio el paciente que responda NO o que los síntomas hayan desaparecido totalmente o que el diagnóstico médico no incluya alguna de las enfermedades listadas en criterios de exclusión.

¿Usted sufre o ha sufrido de alguna enfermedad?

Sí _____ No _____

Si _____ contestó sí, diga cuál o cuáles
¿Usted

ha sido operado?

Sí _____ No _____

Si _____ contestó sí, diga qué operación y hace cuánto la tuvo

CRITERIO DE DECISIÓN: Solo ingresa al estudio el paciente que responda NO o que la operación no haya sido de tubo digestivo, vesícula, hígado o páncreas

¿Sus padres o hermanos sufren de dislipidemia?

Sí _____ No _____ No sabe _____

Si contestó sí, y lo sabe, diga sus manifestaciones (aumento de colesterol, triglicéridos, etc.)

CRITERIO DE DECISIÓN: La respuesta a esta pregunta NO afecta la inclusión del participante. Se anota lo que responda y se considera una variable.

SI CUMPLE CON LOS CRITERIOS INGRESA AL ESTUDIO Y EN ESTE MOMENTO SE LE SOLICITA QUE FIRME LA CLAUSULA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Peso: _____ kg

Talla: _____ cm

Perímetro de Cintura: _____ cm

Anexo 3. Aval del Comité de Bioética de la Universidad de San Buenaventura, Cartagena. Colombia.



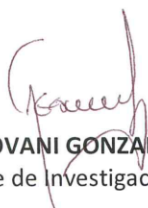
Cartagena de Indias D.T.H. y C. Mayo 13 de 2015

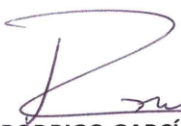
Profesora:
ALICIA ALAYÓN
Investigadora

Cordial Saludo

El Comité de bioética institucional reunido para analizar la solicitud realizada por el proyecto: "Efecto de la complementación con aceite de sachá inchi de una comida rica en grasa sobre la respuesta metabólica e inflamatoria postprandial en adultos sedentarios con y sin obesidad abdominal", que usted lidera y de acuerdo a la Resolución de Rectoría No R-498 en el artículo 5 literal D que dice *"El Comité propenderá por el cumplimiento de la normatividad legal vigente que reglamenta el proceso y seguimiento de la aplicación del Consentimiento Informado en Colombia"*. Ha dado el aval a su solicitud mediante Acta 002 del 12 de mayo 2015, requisito necesario para poder implementarlo.

Cordialmente,


GIOVANI GONZÁLEZ ARIAS
Jefe de Investigaciones


RODRIGO GARCÍA ALARCÓN
Docente Delegado CIDEH



Anexo 4. Aval del Comité de Ética de la Universidad ICESI, Cali. Colombia.

 UNIVERSIDAD ICESI	COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN HUMANA. UNIVERSIDAD ICESI
--	---

Acta de Aprobación N° 064

Proyecto:

Impacto de la complementación con aceite de Sacha Inchi de una comida rica en grasa sobre el nivel de expresión leucocitaria de shirt-1 y su relación con la resistencia a insulina en adultos con y sin obesidad abdominal.

Sometido por: Isabella Echeverri Jiménez.

El Comité de Ética de Investigación Humana de la Universidad Icesi, creado mediante la Resolución de Rectoría No. 763 del 13 de Abril del 2010, se rige por la Resolución 008430 del 04 de Octubre de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia, por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud; la Resolución 2378 de 2008 del Ministerio de la Protección Social, por la cual se adoptan las Buenas Prácticas Clínicas para las instituciones que conducen investigación con medicamentos en seres humanos; los principios de la Asamblea Medica Mundial expuestos en su Declaración de Helsinki de 1964, última revisión en 2002; y el Código de Regulaciones Federales, título 45, parte 46, para la protección de sujetos humanos, del Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos 2000.

Este Comité certifica que:

1. Sus miembros revisaron los siguientes documentos del presente proyecto:

<input checked="" type="checkbox"/> Resumen del Proyecto	<input checked="" type="checkbox"/> Protocolo de Investigación
<input type="checkbox"/> Formato de consentimiento informado	<input type="checkbox"/> Instrumento de recolección de datos
<input type="checkbox"/> Folleto del investigador (si aplica)	<input type="checkbox"/> Carta de instrucciones a participantes
<input type="checkbox"/> Resultados de evaluación por otros comités (si aplica)	

2. El presente proyecto fue evaluado y aprobado por el Comité:

3. Según las categorías de riesgo establecidas en el artículo 11 de la Resolución N° 008430 de 1993 del Ministerio de Salud, el presente estudio tiene la siguiente Clasificación de Riesgo:

<input checked="" type="checkbox"/> Sin Riesgo	<input type="checkbox"/> Riesgo Mínimo	<input type="checkbox"/> Riesgo Mayor del Mínimo
--	--	--

4. Que las medidas que están siendo tomadas para proteger a los sujetos humanos son adecuadas.

5. La forma de obtener el consentimiento informado de los participantes en el estudio es adecuada. Según lo establecido en los artículos 15 y 16 de la Resolución 08430 de 1993. Con la descripción suministrada en la propuesta macro del proyecto se considera inicialmente que no requiere de un formato escrito para documentar el proceso de consentimiento informado, puesto que los métodos seleccionados para recolección de información permiten clasificar la investigación en la categoría de investigación sin riesgo. Sin embargo, los investigadores se han comprometido, y así lo enuncian en la propuesta revisada, a someter el protocolo detallado del estudio de cohortes que planean desarrollar, junto con las respectivas aprobaciones por los comités de las instituciones que sean seleccionadas para participar.
6. Este proyecto será revisado nuevamente en la próxima reunión plenaria del Comité, sin embargo, el Comité puede ser convocado a solicitud de algún miembro del Comité o se las directivas institucionales para revisar cualquier asunto relacionado con los derechos y el bienestar de los sujetos institucionales para revisar cualquier asunto relacionado con los derechos y el bienestar de los sujetos involucrados en este estudio
7. Informará inmediatamente a las directivas institucionales:
 - a. Todo desacato de los investigadores a las solicitudes del Comité.
 - b. Cualquier suspensión o terminación de la aprobación por parte del Comité.
8. Informará inmediatamente a las directivas institucionales toda información que reciba acerca de:
 - a. Lesiones a sujetos humanos.
Problemas imprevistos que involucren riesgos para los sujetos u otras personas
 - b. Cualquier cambio o modificación a este proyecto que haya sido revisado y aprobado por el Comité
9. El presente proyecto ha sido aprobado por un periodo de 1 año a partir de la fecha de aprobación.
Los proyectos de duración mayor a un año, deberán ser sometidos nuevamente con todos los documentos para revisión actualizados
10. El investigador principal deberá informar al Comité
 - a. Cualquier cambio que se proponga introducir en este proyecto. Estos cambios no podrá iniciarse sin la revisión y aprobación del Comité excepto cuando sean necesarios para eliminar peligros inminentes para los sujetos.
 - b. Cualquier problema imprevisto que involucre riesgos para los sujetos u otros.
 - c. Cualquier evento adverso serio dentro de las primeras 24 horas de ocurrido, al secretario (a) y al presidente.
 - d. Cualquier conocimiento nuevo respecto al estudio, que pueda afectar la tasa riesgo/beneficio para los sujetos participantes

 <div> UNIVERSIDAD ICESI </div>	COMITÉ DE ÉTICA DE INVESTIGACIÓN HUMANA. UNIVERSIDAD ICESI
--	--

- e. Cualquier decisión tomada por otros comités de ética
- f. La terminación prematura o suspensión del proyecto explicando la razón para esto
- g. El investigador principal deberá presentar un informe al final del año de aprobación. Los proyectos de duración mayor a un año, deberán ser sometidos nuevamente con todos los documentos para revisión actualizados.

Firma: Yoseth Ariza-Araujo **Fecha:**

10	11	2015
----	----	------

Nombre: Yoseth Ariza-Araujo
Teléfono: 5552334 ext. 8140
Capacidad representativa: Presidente del Comité de Ética Humana

Anexo 5: Registro en Clinical Trials

-----Mensaje original-----

De: ClinicalTrials.gov Registration [mailto:register@clinicaltrials.gov]

Enviado el: miércoles, 31 de agosto de 2016 08:44 a.m.

Para: Isabella Echeverri Jimenez

CC: register@clinicaltrials.gov

Asunto: ClinicalTrials.gov Protocol Record CA051356

Message generated by ClinicalTrials.gov Protocol Registration and Results System
**Universidad Icesi Protocol Record CA051356, Effectiveness of Sacha Inchi
Supplementation on Postprandial Inflammation, has been reviewed and will
be made public on ClinicalTrials.gov.**

RECORDS USUALLY APPEAR ON ClinicalTrials.gov WITHIN 2 BUSINESS
DAYS of the receipt of this message.

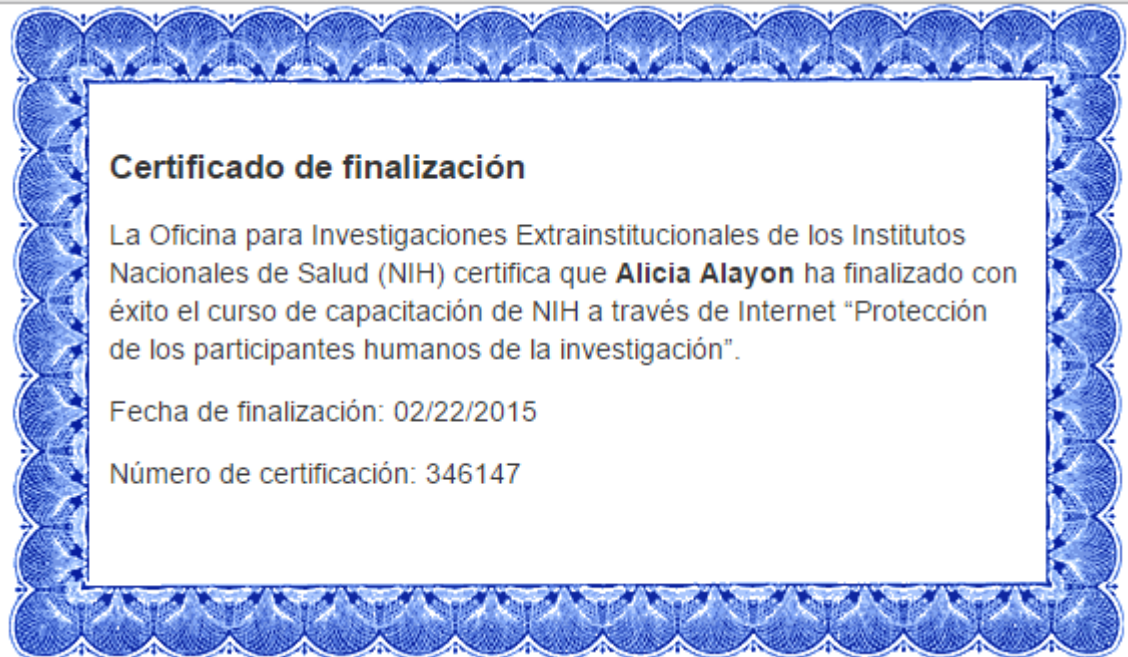
QUESTIONS? Contact us at: register@clinicaltrials.gov

Thank you,

PRS Team
ClinicalTrials.gov

ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02886169

Anexo 6. Certificado del curso “Protección de los participantes humanos de la investigación”

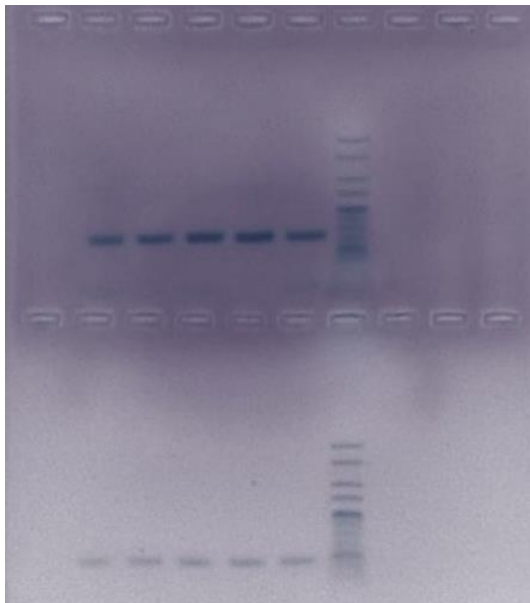


Anexo 7. Control de la amplificación

Se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2 % para determinar los retrotranscritos amplificados.

Se dispensó el agar en la cuba de electroforesis y se agregaron 2uL de Bromuro de etidio. Se colocaron los peines y se dejó enfriar. Se retiraron los peines y se agregó el buffer de corrida. Se cargó en cada pozo 8,3 uL de cada muestra mezclados con 1,7 uL de buffer de carga. Para el referente de pesos moleculares se colocaron 2 uL d DNA step Ladder de 25 bp con 5 uL de buffer de carga. Se realizó la corrida a 80 v.

El primer y últimos 3 pozos se destinaron a blancos. Fila superior en su orden, amplificación de SIRT-1 de las muestras 3A, 11C, 101 A, 105 C y Hela. A continuación marcador de pesos moleculares. La banda de SIRT-1 corresponde a un tamaño de 142 pb. Fila inferior IL-6, igual orden. Tamaño de IL-6:101 pb.



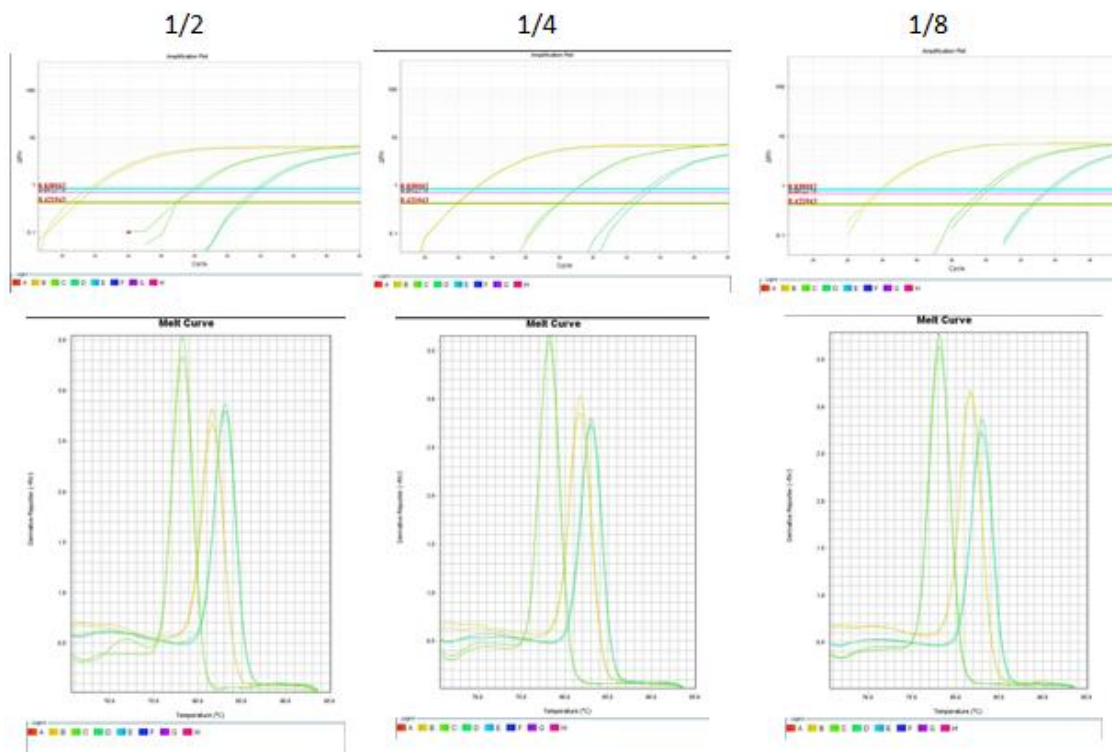
Anexo 8. Estandarización de la PCR cuantitativa (qPCR)

- *Estandarización*

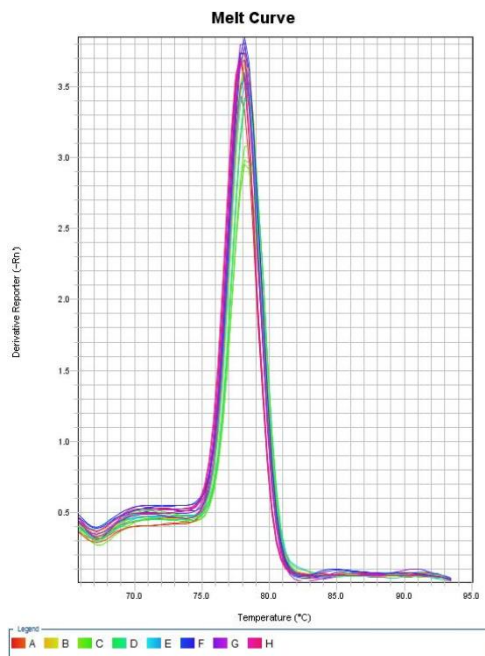
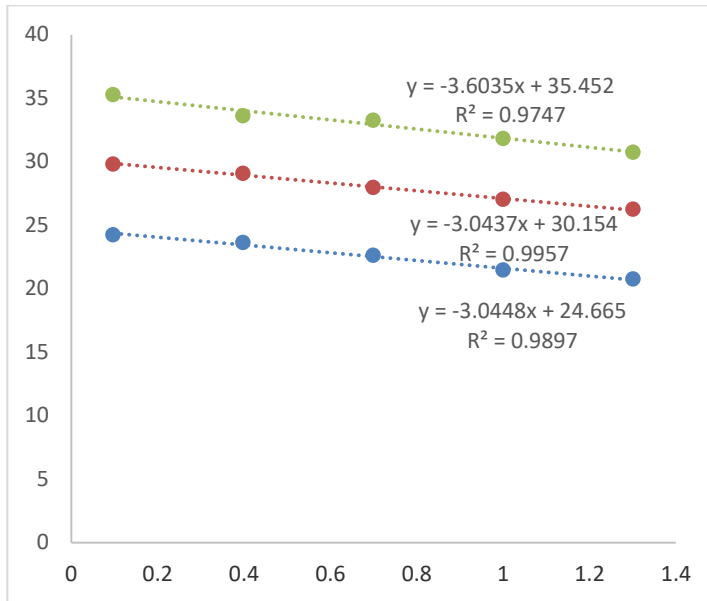
1. Validación uso GAPDH

Se corrieron qPCR para los tres genes en concentraciones 1x, 1/2 x, 1/4 x, 1/8 x y 1/16 x.

A continuación se muestran los resultados para 1/2, 1/4 y 1/8. Se decidió trabajar 1/2,5



- *Evaluación de la Eficiencia*



Validación de los amplicones, por electroforesis en agarosa 3%, en buffer TBE 0,5. Se utilizó HyperLadder™ 25bp, Bioline, Lot H5-113101, como marcador de pesos. Buffer de carga Blue/Orange 6X Loading Dye, Ref G190A. Lot 000051462, Promega.

